

PHYTOPATHOLOGIA MEDITERRANEA

DIRETTA DA

A. CICCARONE

Bari

G. GOIDÀNICH

Bologna

COMITATO DI REDAZIONE

J. BARTHELET, Antibes (Francia); C. CATSIMBAS, Athens (Grecia); H. DIAS, Oeiras (Portogallo); A. F. EL-HELALY, Alexandria (Egitto); G. KAREL, Ankara (Turchia); L. LING, FAO, Roma (Italia); G. MALENÇON, Rabat (Marocco); I. REICHERT, Rehovot (Israele); J. R. SARDIÑA, La Coruña (Spagna); M. YOSSIFOVITCH, Beograd (Jugoslavia)



EDIZIONI AGRICOLE BOLOGNA - ITALIA

Quadrimestrale - Spedizione in abbonamento postale - Gruppo IV

Indice - Index

C.D.U. 632.481.146 <i>Phytophthora infestans</i> (45):632.8.097	CICCARONE A., W. BLACK e J. F. MALCOLMSON - Identificazione di razze di <i>Phytophthora infestans</i> (Mont.) de Bary su parti di Patata e Pomodoro, raccolte in quattro regioni italiane. Identification of races of <i>Phytophthora infestans</i> (Mont.) de Bary on Potatoes and Tomatoes, from four italian regions	p. 49
632.38 <i>Fragaria vesca</i> : 632.3.01(45)	CANOVA A. e QUAGLIA A. - Frequenza delle virosi nei fragoletti dell'imolese. Occurrence of virus diseases in Strawberry crops in the Imola territory	» 54
632.488.45 <i>Fusarium vasinfectum</i> : 632.651 <i>Meloidogyne hapla</i> [633.511] (62)	ABO-EL-DAHAB M.K. - Relationship of root-knot nematodes and <i>Fusarium</i> -wilt of Cotton in Egyptian soils	» 61
632.482.193.7 <i>Mycosphaerella linorum</i> : 633.521 (45)	MARTELLI G.P. - La septoriosi (« Pasma ») del Lino (<i>Linum usitatissimum</i> L.) in Italia. The « Pasma » disease of Flax (<i>Linum usitatissimum</i> L.) in Italy	» 66
632.38 <i>Marmor cucumeris</i> (569.4)	NITZANY F.E. and R.E. WILKINSON - The identification of <i>Fusarium</i> -wilt of Cotton in Egyptian soils	» 61
577.154.33 + 35:582.288.43 <i>Cycloconium oleaginum</i>	MATTA A. e C. RUBIOLA - Attività pectolitica e cellulolitica di alcuni isolamenti di <i>Cycloconium oleaginum</i> Cast. Pecto- and cellulolytic activity of several isolates of <i>Cycloconium oleaginum</i> Cast	» 77
632.911.2 : 576.851.132 <i>Pseudomonas medicaginis</i> <i>phaseolicola</i>	ERCOLANI G.L. - Osservazioni preliminari sul comportamento di <i>Pseudomonas medicaginis</i> f. sp. <i>Phaseolicola</i> (Burk.) Dowson in presenza di antibiotici, in vitro. Preliminary observations on the behaviour of <i>Pseudomonas medicaginis</i> f. sp. <i>phaseolicola</i> (Burk.) Dowson in the presence of antibiotics, in vitro	» 83
	CIFERRI R. - Comments on some statements of Professor Reichert	» 90
	Recensioni - Reviews - Revue Bibliographique	» 91

PHYTOPATHOLOGIA MEDITERRANEA

REDATTORI

Antonio Canova; Istituto Patologia vegetale Università - Via F. Re 8, BOLOGNA (Italia)
Antonio Graniti; Istit. Patologia vegetale Università - Via G. Amendola 165/A, BARI (Italia)

La responsabilità dei lavori ospitati in questa rivista è esclusivamente degli Autori.
Prezzo di abbonamento per ogni volume (costituito di quattro fascicoli): Italia L. 2000 - Estero \$ 4.
Abbonamenti e fascicoli arretrati: Edizioni Agricole, Via Emilia Levante 31² - BOLOGNA

PHYTOPATHOLOGIA MEDITERRANEA

DIRETTA DA

A. CICCARONE

Bari

G. GOIDÀNICH

Bologna


COMITATO DI REDAZIONE

J. BARTHELET, Antibes (Francia); C. CATSIMBAS, Athens (Grecia); H. DIAS, Oeiras (Portogallo); A. F. EL-HELALY, Alexandria (Egitto); G. KAREL, Ankara (Turchia); L. LING, FAO, Roma (Italia); G. MALENÇON, Rabat (Marocco); I. REICHERT, Rehovot (Israele); J. R. SARDIÑA, La Coruña (Spagna); M. YOSSIFOVITCH, Beograd (Jugoslavia)



EDIZIONI AGRICOLE BOLOGNA - ITALIA

Quadrimestrale - Spedizione in abbonamento postale - Gruppo IV



Digitized by the Internet Archive
in 2025

Identificazione di razze di *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary su parti di Patata e Pomodoro, raccolte in quattro regioni italiane(*)

di ANTONIO CICCARONE, W. BLACK e JEAN F. MALCOLMSON

C.D.U. 632.481.146 *Phytophthora infestans* (45): 632.8.097

Phytophthora infestans (Mont.) de Bary è, nel complesso, il più importante parassita della Patata e del Pomodoro in Italia. Gli aspetti epidemiologici del fungo, su Pomodoro e anche su Patata, appaiono tuttavia differenti nelle varie regioni italiane (Ciccarone, 1956).

Nonostante la gravità delle epifizie occorse negli ultimi anni, specialmente su Pomodoro, relativamente poco si sa della composizione razziale di *P. infestans* in Italia. Qualche indicazione sulla variabilità del fungo può essere desunta dalle osservazioni di Goidanich (1936) su una popolazione di *P. infestans* che colpiva i fusti più facilmente delle foglie del Pomodoro. Evidenza di specializzazione fu ottenuta da Black e Mezzetti (1950) con l'esame di 15 isolati monozosporici di *P. infestans* da piante di Patata e di Pomodoro. Questi isolati furono saggiati su foglie staccate della piccola serie di ospiti differenziali disponibili nel 1949. Poiché il genotipo R₄ allora non era conosciuto, l'identità degli isolati non poté essere accuratamente accertata; tuttavia, secondo l'odierno sistema internazionale di nomenclatura (Black, Mastenbroek, Mills e Peterson, 1953), sembra evidente che undici isolati appartenevano alla razza 0 o alla razza 4, tre erano della razza 3 o della razza 3,4 ed uno apparteneva alla razza 2, 3 o alla razza 2, 3, 4; cosicché tre razze o forse cinque erano presenti in Italia nel 1949.

Materiali e metodi

Durante il 1959, furono eseguiti isolamenti di *P. infestans* da parti diverse di Patate e Pomodori provenienti dalla Sicilia,

dalla Puglia, dalla Campania e dall'Emilia (1). Il fungo fu isolato e mantenuto su un substrato di fiocchi di avena. Il substrato consisteva di una soluzione di melassa di Canna da zucchero (cc 5), di FeCl₂ 6H₂O (mg 60), di acqua di fonte (cc 1000) e di agar (g 18); cc 10 di questa soluzione erano distribuiti in tubi di coltura di cm 16 × 1,6 contenenti ciascuno g 0,5 di fiocchi di avena (cariossidi di avena schiacciate). Il substrato era sterilizzato in autoclave; e quest'ultimo veniva spento, appena raggiunta la pressione di 1 atmosfera. Il pH finale era di circa 7. Ci si attenne sempre ad isolati massali.

Alla « Scottish Plant Breeding Station », dove le identificazioni furono eseguite, le colture venivano trasferite in agar di piselli (g 150 di piselli freschi congelati omogeneizzati e g 10 di agar in 1 litro di acqua distillata. Sterilizzazione in autoclave a circa 1 atmosfera per 15 minuti). Zoosporangi allevati in questo substrato erano sospesi in acqua distillata e spruzzati su fogliole staccate della serie differenziale di patate; le foglie erano all'uopo capovolte e disposte in scatole aperte su uno strato di torba inumidita ri-

(*) Lavoro eseguito con un contributo del Consiglio Nazionale delle Ricerche.

(1) Si ringraziano il Dott. Mario Salerno, dell'Istituto di Patologia vegetale dell'Università di Catania; il Dott. Giampaolo Silvestri, della Stazione Sperimentale per l'Industria delle Conserve Alimentari di Parma, e il Dott. Salvatore Porcu, dell'Ufficio di Salerno della stessa Stazione; il Dott. Bruno Casarini, dell'Istituto di Patologia vegetale dell'Università di Bologna, il Prof. Antonio Graniti e il Dott. Giovanni Martelli, dell'Istituto di Patologia vegetale della Università di Bari, per il valido aiuto da tutti loro dato alla raccolta del materiale.

TABELLA I. - Isolamenti da Patata. (a)

Data di raccolta	Cultivar	Comune e (fra parentesi) contrada	Numero delle determinazioni delle razze indicate							Totale delle determi- nazioni eseguite
			0	2	3	4	2,4	3,4	2,3,4	
SICILIA										
16-5-59	« Gallo »	Fiumefreddo (Schiavo)	—	—	—	5	—	—	—	5
16-5-59	« Magna »	Fiumefreddo (Cottone)	—	—	—	4	—	—	—	4
16-5-59	« Majestic »	Fiumefreddo (Schiavo)	—	—	(1)	5	—	—	—	6
16-5-59	sconosciuta	Piedimonte Etneo (Notara)	—	—	—	5	—	—	—	5
16-5-59	« Rotonda »	Piedimonte Etneo	—	—	—	5	—	—	—	5
			1		24				25	
PUGLIA										
30-4-59	sconosciuta	Conversano	—	—	—	10	—	—	—	10
5-6-59	sconosciuta	Mariotto	—	—	—	4	—	—	—	4
11-6-59	sconosciuta	Foggia (Troiana)	—	—	—	3	—	1	—	4
11-6-59	« Tonda di Berlino »	Foggia (Borgo Mezzanone)	—	—	—	5	—	—	—	5
11-6-59	sconosciuta	Terlizzi	—	—	—	4	—	—	—	4
11-6-59	sconosciuta	Molfetta	—	—	—	6	—	2	—	8
11-6-59	sconosciuta	Margherita (Torre della Finanza)	—	—	—	5	—	—	—	5
					37		3		40	
CAMPANIA										
26-5-59	sconosciuta	S. Antonio Abbate	—	—	—	5	—	—	—	5
EMILIA										
25-5-59	« Saskia »	Bentivoglio	—	—	—	5	—	—	—	5
25-5-59	« Saskia »	Bentivoglio (S. Marino)	—	—	—	5	—	—	—	5
25-5-59	« Saskia »	Altedo	—	—	—	5	—	—	—	5
26-5-59	« Bintje »	Altedo	—	—	—	5	—	—	—	5
26-5-59	« Kennebec »	S. Pietro in Casale	—	—	—	3	—	—	—	3
6-6-59	« Bijsma »	Busseto (Roncole)	—	—	—	5	—	—	—	5
6-6-59	« Bintje »	Molinella	—	—	—	4	—	—	—	4
6-6-59	« Saskia »	Molinella	—	—	—	3	—	—	—	3
8-6-59	« Bea »	Molinella	—	—	—	5	—	—	—	5
8-6-59	« Bintje »	Ferrara	—	—	—	7	—	1	—	8
10-6-59	« Bintje » (?)	Molinella	—	—	1	3	1	—	1	6
5-6-59	« Ladina » e « Tonda di Berlino »	Vicofertile	4	—	1	—	—	—	—	5
			4	2		50	1	1	1	59

(a) In questa tavola e nelle seguenti, i dati tra parentesi indicano scarsa presenza della razza nella o nelle colture esaminate.

coperta di garza fine. Dopo 24 ore, le foglie venivano riportate in posizione normale, in modo che l'ipofillo inoculato si trovasse a contatto della superficie umida, durante la incubazione. Coperture di plastica servivano a mantenere un'alta umidità nelle scatole durante i 7 giorni dell'incubazione, a circa 16 gradi centigradi.

Resultati

Sono state saggiate 183 colture di *P. infestans* e sono state eseguite 193 determina-

zioni di razze. I risultati sono esposti in dettaglio nelle Tabelle I e II e sono riassunti nella Tabella III. Esse tabelle indicano chiaramente che la razza 4 è comune sulle Patate e la razza 0 prevale sul Pomodoro; ambedue le razze sono apparse abbondantemente presenti in tutte le regioni alle quali questa indagine è stata estesa. La composizione razziale di *P. infestans* è sembrata assai uniforme su Patata; la razza 4 è stata difatti identificata nell'89,89 % dei casi. Sul Pomodoro il rapporto complessivo fra la

razza 0 e la razza 4 è stato di circa 2 : 1; ma in Campania la razza 4 è stata incontrata più frequentemente .

Quindici colture hanno mostrato di es-
ser date da mescolanze di razze e cinque di
queste mescolanze sono apparse costituite
dalle sole razze 0 e 4; in altre otto colture
miste, le razze 0 o 4 sono state identificate
insieme alle razze 3 o 3, 4; una coltura da
Patata ha rivelato di essere una mescolanza
delle razze 2, 4 e 2, 3, 4; e una da Pomo-
doro si è rivelata come una mescolanza delle
tre razze: 0; 3; 4. Una coltura da Patata ha
presentato solo razza 3, 4.

Discussione

I risultati sopra esposti mostrano che la
razza comune di *P. infestans* su Patata è la
razza 4; mentre sul Pomodoro è tale la raz-
za 0. La prevalenza della razza 4 sulla Pa-
tata indica che le epifizie di « peronospora »
su questa coltura sono in gran parte indi-
pendenti da quelle che si hanno sul Pomo-



Fig. 1. - Località di provenienza degli isolati di *Phytophthora infestans* su Patata e Pomodoro.

TABELLA II. - Isolamenti da Pomodoro.

Data di raccolta	Cultivar	Comune e (fra parentesi) contrada	Numero delle determinazioni delle razze indicate							Totale delle determi- nazioni eseguite
			0	2	3	4	2,4	3,4	2,3,4	
SICILIA										
10-5-59	« Marmande » (?)	Vittoria (Provaleggio)	2	—	—	3	—	—	—	5
10-5-59	« Marmande » (?)	Vittoria (Anguilla)	3	—	—	—	—	—	—	3
10-5-59	« Marmande » (?)	Scoglitti (Giafanetto)	4	—	—	1	—	—	—	5
16-5-59	« Marmande » (?)	Olivarella (Croce Caruso)	5	—	—	—	—	—	—	5
16-5-59	« Marmande » (?)	San Filippo Archi (Marina)	4	—	—	2	—	—	—	6
16-5-59	« Marmande » (?)	San Filippo del Melo (Sperone)	4	—	(1)	(1)	—	—	—	6
			22	1		7				30
PUGLIA										
26-5-59	locale	San Pietro Vernotico (Marzi)	5	—	—	—	—	—	—	5
CAMPANIA										
23-5-59	sconosciuta	Pontecagnano (Picciola)	6	—	—	4	—	1	—	11
11-6-59	americana indefinita	Pontecagnano (Picciola)	2	—	—	—	—	—	—	2
11-6-59	sconosciuta	Montecorvino Pugliano (Rapaciceri)	1	—	—	2	—	—	—	3
26-6-59	« Tondo di Castelvol- turno »	Mondragone (Ottarolo)	—	—	—	1	—	—	—	1
26-6-59	« Vallonese »	Villa Literno	1	—	2	5	—	—	—	8
			10	2		12	1			25
EMILIA										
5-6-59	sconosciuta	Busseto (Roncole)	2	—	—	2	—	—	—	4

TABELLA III. - Dati riassuntivi delle identificazioni effettuate.

Ospite	Regione	Numero di determinazioni eseguite delle razze indicate						Totale delle determinazioni eseguite
		0	3	4	2,4	3,4	2,3,4	
Patata	Sicilia	—	(1)	24	—	—	—	25
	Puglia	—	—	37	—	3	—	40
	Campania	—	—	5	—	—	—	5
	Emilia	4	2	50	1	1	1	59
Totali parziali		4	2 (1)	116	1	4	1	129
% dei totali parziali .		3,10	1,55 (0,77)	89,89	0,77	3,10	0,77	
Pomodoro . .	Sicilia	22	(1)	6 (1)	—	—	—	30
	Puglia	5	—	—	—	—	—	5
	Campania	10	2	12	—	1	—	25
	Emilia	2	—	2	—	—	—	4
Totali parziali		39	2 (1)	20 (1)	—	1	—	64
% dei totali parziali .		60,93	3,12 (1,56)	31,25 (1,56)	—	1,56	—	
								193

doro. Le frequenze relative delle razze 0 e 4 sul Pomodoro sembrano lasciar pensare invece che la Patata è una importante fonte di infezione per il Pomodoro, tanto più che il Pomodoro segue spesso alla Patata ed è perciò esposto a infezioni provenienti da colture già insediate in campo. Oltre le razze comuni 0 e 4, sono state identificate le razze più specializzate: 3; 2, 4; 3, 4; 2, 3, 4. La loro presenza, tuttavia, è troppo scarsa per dare un'idea adeguata della loro distribuzione geografica; ed è evidente che esse non hanno un ruolo importante nelle epifizie che si manifestano nelle regioni dove sono state trovate.

Osservando le date di raccolta del materiale dal quale sono stati ottenuti gli isolati, è sembrato che l'incidenza delle razze specializzate tenda ad aumentare con l'avanzare della stagione.

Il confronto della presente composizione razziale delle popolazioni di « peronospora » con i dati del 1949 (Black e Mezzetti, 1950) rivela che scarsissimi mutamenti nella importanza delle razze specializzate si sono avuti in Italia negli ultimi dieci anni.

Sfortunatamente, la mancanza, nelle varietà di Patata indicatrici, del genotipo R_4 nel 1949 rende il confronto delle frequenze relative delle razze 0 e 4 impossibile; e la possibilità di un progressivo aumento del carattere della razza 4 non può perciò essere escluso.

L'infrequenza delle razze più altamente specializzate capaci di attaccare i genotipi R_1 , R_2 o R_3 indica che le varietà commerciali più diffuse nelle quattro regioni considerate consistono quasi interamente di tipi di *Solanum tuberosum* L. È noto che *P. infestans* non si specializza, se non è costretta a tanto dalla introduzione di nuovi genotipi R e che

le razze altamente specializzate tendono a scomparire nell'assenza di tali genotipi, cosicché le forme più semplici del parassita sarebbero le più proliferare sui pomodori e sulle patate che mancano di geni di resistenza. Come risultato della presente ricerca, la razza 0 sembra quella che si adatta meglio ai pomodori; mentre la razza 4 prevale sulle varietà di *S. tuberosum* in queste regioni italiane, come nella maggioranza dei Paesi del mondo.

L'esatto modo di originarsi delle razze specializzate è stato oggetto di molte discussioni. È noto che il carattere di razza 4, tanto evidente nei nostri isolati, può apparire in colture monosporangiali e monozoospore di altre razze (Gallegly e Eichenmuller, 1959). Poiché sono state trovate zoospore binucleate di *P. infestans* (Gallegly e Eichenmuller, 1959), è possibile che nuclei mutanti ed eterocariosi siano responsabili di questi cambiamenti (vedi anche Buxton, 1959).

La relativa scarsità di razze specializzate in Italia fa pensare che l'introduzione di varietà di Patata provviste di geni R ci proteggerebbe almeno temporaneamente da gravi distruzioni.

L'esperienza di altri Paesi, tuttavia, insegna che tale protezione sarebbe alla fine sovrappiatta se non fosse unita a un alto grado di resistenza di campo a tutte le razze.

Riassunto

Sono state eseguite colture di *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary da organi diversi di Patata e Pomodoro provenienti dalla Sicilia, dalla Puglia, dalla Campania e dall'Emilia.

Partendo da 183 isolati massali, sono state eseguite 193 identificazioni di razze (129 da Patata e 64 da Pomodoro).

La razza 4 è stata identificata nell'89,89 % delle colture da Patata, mentre le razze 0 e 4 so-

no state trovate rispettivamente nel 60,93% e nel 31,25 % delle colture da Pomodoro. Ambedue le razze sono presenti in tutte le regioni alle quali l'indagine si riferisce; in cinque casi, esse sono state ottenute insieme, nella stessa coltura mista. Otto colture hanno mostrato di constare di mescolanze della razza 0 o 4 con le razze 3 o 3,4; e una coltura da Pomodoro ha presentato una mescolanza delle tre razze: 0; 3; 4. Una coltura da Patata si è dimostrata come una mescolanza delle razze 2, 4 e 2, 3, 4 e un'altra è apparsa data dalla sola razza 3, 4. E da notare la presenza del carattere di razza 4 in queste colture.

La predominanza della razza 4 sulla Patata e della razza 0 sul Pomodoro indica che l'infezione della Patata è in gran parte indipendente da quella del Pomodoro. La proporzione relativamente alta di razza 4 sul Pomodoro lascia pensare che la Patata possa costituire una sorgente d'infezione per il primo ospite, specialmente considerando il fatto che la coltura del Pomodoro segue spesso la Patata.

La bassa frequenza di razze specializzate indica che i corrispondenti genotipi R non sono comuni nelle regioni studiate. Il numero di isolamenti di queste razze non è stato sufficiente a determinarne la distribuzione geografica.

Summary

IDENTIFICATION OF RACES OF *PHYTOPHTHORA INFESTANS* (MONT.) DE BARY ON POTATOES AND TOMATOES, FROM FOUR ITALIAN REGIONS

Cultures of *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary were obtained from Potatoes and Tomatoes in Sicily, Apulia, Campania and Emilia. From 183 multispore isolations, 193 race determinations (129 from Potatoes and 64 from Tomatoes) were made.

Race 4 was identified in 89,89 % of the cultures obtained from Potatoes, while races 0 and 4 were found in 60,93 % and 31,25 % respectively, of those from Tomatoes. Both races were present in all the regions investigated, and on five occasions they were obtained as mixtures in one culture. Eight cultures consisted of mixtures of races 0 or 4 with race 3 or 3, 4 and one, from Tomato, was a mixture of the three races: 0; 3; 4. One culture from Potato was a mixture of races 2, 4 and 2, 3, 4 and another was race 3, 4 alone. The presence of the race 4 characteristic in these cultures was noted.

The predominance of race 4 on potatoes and race 0 on tomatoes indicates that infection of potatoes is largely independent of that on tomatoes. The relatively high proportion of race 4 on tomatoes suggests that potatoes might provide a source of infection with this race, particularly where tomatoes follow potatoes.

The low frequency of specialised races indicates that the corresponding R genotypes are not common in the regions studied. Sufficient isolates of these races were not obtained to determine their geographical distribution.

Résumé

IDENTIFICATION DE RACES DE *PHYTOPHTHORA INFESTANS* (MONT.) DE BARY SUR POMME DE TERRE E TOMATE DE QUATRE REGIONS ITALIENNES

Des cultures de *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary ont été obtenues de Pomme de terre et de Tomate provenant de la Sicile, de la Pouille, de la Campanie et de l'Émilie. 193

déterminations de races (129 de Pommes de terre et 64 de Tomates) ont été faites sur 183 cultures massales du champignon.

La race 4 a été identifiée dans le 89,89 % des cultures obtenues de la Pomme de terre; et les races 0 et 4 ont été obtenues respectivement dans le 60,93 % et le 31,25 % des cultures provenant de la Tomate. Les deux races ont été trouvées dans toutes les régions objet de cette recherche; cinq fois, les deux races ont apparues dans la même culture mixte. Huit cultures ont donné les races 0 ou 4 mélangées aux races 3 ou 3, 4; une culture de Tomate consistait des races 0; 3; 4. Une culture de Pomme de terre était un mélange des races 2, 4 et 2, 3, 4; une autre culture de Pomme de terre, enfin, était donnée par la race 3, 4 seulement. La présence du caractère de race 4 dans ces cultures fut remarquée.

La prédominance de la race 4 sur la Pomme de terre et de la race 0 sur la Tomate indique que les infections sur Pomme de terre sont largement indépendantes de celles sur Tomate. La proportion relativement haute de la race 4 sur la Tomate suggère la possibilité que les pommes de terre constituent une source d'infection de cette race sur le premier hôte, particulièrement où la Tomate est fréquemment cultivée après la Pomme de terre.

La rare fréquence des races spécialisées indique que les genotypes R correspondants ne sont pas communs dans les régions étudiées. La quantité des isolates de ces races n'est pas suffisante à déterminer leur distribution géographique.

LAVORI CITATI

- BLACK W. e A MEZZETTI, 1950. Biotipi di *Phytophthora infestans* De By. in Italia, *Boll. Staz. Pat. veg. Roma*, S. III, 6 (1948), 123-127.
- BLACK W., C. MASTENBROUK, W. R. MILLS e L. C. PETERSON, 1953. A proposal for an international nomenclature of races of *Phytophthora infestans* and of genes controlling immunity in *Solanum demissum* derivatives. *Euphytica*, 2, 173-178.
- BUXTON E. W., 1959. Mechanism of variation in *Fusarium oxysporum* in relation to host-parasite interactions. In: HOLTON C. S., G. W. FISCHER, R. W. FULTON, HELEN HART, S. E. A. MCCALLAN *Plant Pathology*, Univ. Wisconsin Press, Madison, 183-191.
- CICCARONE A., 1956. Gli aspetti fitopatologici della coltura del Pomodoro in Italia. *Genet. agr.* 6, 303-340.
- CICCARONE A. e A. CARILLI, 1951. Note preliminari sulle osservazioni attualmente in corso intorno ad alcuni avvizzimenti del Pomodoro, con qualche cenno sull'azione concomitante di un eriofide: *Vasates destructor* (K.). *Boll. Staz. Pat. veg. Roma*, S. III, 7 (1949), 131-157.
- GALLEGLY M. E. e J. J. EICHENMULLER, 1959. The spontaneous appearance of the potato race 4 character in cultures of *Phytophthora infestans*. *Amer. Potato J.*, 36, 45-51.
- GOIDANICH G., 1936. Ricerche sulle *Phytophthorae* del Pomodoro. II. Marciumi del fusto causati da *Phytophthora infestans* (Mont.) De Bary con nozioni sulla specializzazione biologica di questo parassita. *Boll. Staz. Pat. veg. Roma*, N. S., 16, 175-182.
- HYRE R. A., 1955. Three methods of forecasting late blight of Potato and Tomato in Northern United States, *Amer. Potato J.*, 32, 362-371.

Frequenza delle virosi nei fragoletti dell'imolese

di ANTONIO CANOVA e ANTONIO QUAGLIA

(Studio del Gruppo di Lavoro C. N. R. per le Virosi: XIV)

C. D. U. 632.38 *Fragaria*
vesca: 632.3.01 (45)

In un precedente scritto (Goidànich e Canova, 1959) è stato riferito sul deperimento di natura contagiosa della Fragola, riscontrato principalmente nelle colture della regione emiliana e sulla sua probabile frequenza.

Per più precisi e inconfutabili elementi su quest'ultimo aspetto della « degenerazione » da virus della rosacea da frutto, sono state condotte, nel corso degli anni 1958 e 1959, opportune ricerche — colle modalità e con i risultati di cui più sotto riferiremo. Contemporaneamente si è cercato di raccogliere informazioni sui tipi di infezioni da virus che più comunemente concorrono a causare l'anormale stato vegetativo delle piante delle quali si è detto.

E nota per la maggior parte delle malattie da virus — e per quelle della Fragola in particolare — una fase di completa latenza dei sintomi, la mancanza cioè di alterazioni macroscopiche apprezzabili, da cui la impossibilità materiale di distinguere le piante « degenerate » da quelle sane, mediante un semplice esame a vista. E, anche quando il fenomeno sopra citato (latenza) non interessa la totalità delle forme sintomatologiche che caratterizzano le infezioni virali (come si verifica talvolta nel caso in discussione, in un breve intervallo di tempo immediatamente seguente la ripresa vegetativa delle piante), vi può essere coincidenza (aspecificità) delle alterazioni con quelle dovute ad altri fatti patologici: infettivi o meno.

Date le difficoltà ora accennate, la via più sicura per raggiungere lo scopo prefissoci — nel caso particolare della Fragola — è apparsa essere quella del saggio diretto del materiale su piante « rivelatrici »; la riproduzione, cioè, di eventuali fenomeni contagiosi su un ospite dotato di particolare sensibilità

e che in ogni caso manifesta l'avvenuta infezione con sintomi facilmente e chiaramente apprezzabili a vista. Per la Fragola tale materiale « test » è rappresentato, essenzialmente, dalla *Fragaria vesca*, la comune Fragola di monte.

Abbiamo adottato quindi, per le ricerche in discussione il suddetto materiale di studio, e la seguente tecnica: dalle piante in pieno campo venivano raccolte una-due foglie giovani con colonie di afide bianco *Pentatrichopus fragaefolii* Cock. [tutte le piante o quasi tutte risultavano infestate, specialmente in determinati periodi dell'anno, da questa specie di emitters; (Canova e Quaglia, 1961)] isolatamente conservate e gli afidi successivamente trasferiti su giovani esemplari di *F. vesca* coltivati in vaso.

Per ogni campione di foglie in tal modo raccolte veniva inoculata (mediante trapianto di 4-5 afidi) una sola fragola di monte. Gli insetti così utilizzati nella trasmissione di eventuali entità contagiose presenti nel materiale da cui essi provenivano, al sesto giorno dal loro trasferimento sul nuovo ospite (*F. vesca*), erano devitalizzati mediante irrorazione delle piante con soluzione di insetticida sistemico.

Le piante rivelatrici, poi, venivano conservate per un periodo massimo di due mesi, e a più riprese accuratamente osservate per tutti i rilievi del caso: comparsa, cioè, delle prime manifestazioni patologiche, tipo e variabilità di queste.

Si è, in base ad esperienze precedentemente acquisite e alle notizie attinte dalla abbondante bibliografia in argomento, ritenuto opportuno raggruppare in alcune categorie principali, il complesso delle alterazioni morfologiche, strutturali e cromatiche osservabili nella vegetazione epigea delle piante

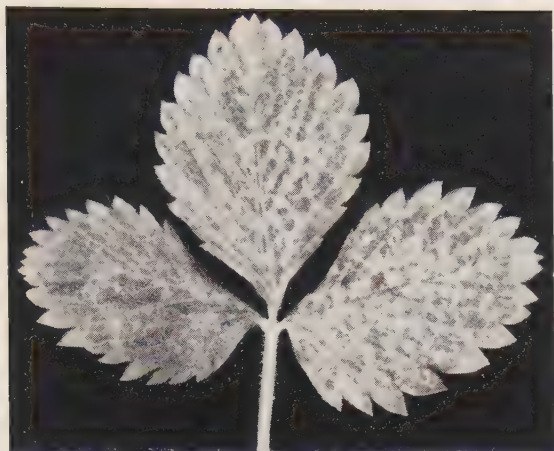


Fig. 1. - Alterazioni cromatiche, del tipo a maculatura giallo-verde e verde-chiara, della lamina di *F. vesca*, in piante con mosaico leggero. La maculatura clorotica è visibile già sulle foglie giovanissime in accrescimento.



Fig. 2. - Foglia di *F. vesca* affetta da mosaico bolloso.

di saggio. I virus, infatti, che sono stati tuttora individuati nella nostra specie da frutto, superano certamente la decina e causano tutti nella *F. vesca*, in forma più o meno grave e complessa, manifestazioni anomale diverse ma riferibili, trattandosi di una variabilità sintomatologica relativa, a mosaico, nanismo, deformazioni varie del lembo, qualche necrosi spesso comune a più di uno di essi. Se si considera oltre a ciò, anche la frequenza con cui questi virus ricorrono in natura in associazioni varie, appare comprensibile

il nostro principio di tener conto in un esame approssimativo delle probabili entità virali e loro associazioni che si riscontrano nel nostro materiale di studio, solo delle principali manifestazioni patologiche secondo la schematizzazione qui di seguito riportata.

a) mosaico leggero, consistente in una alterazione cromatica della lamina, essenzialmente in forma di maculature giallo-verde o verde-chiara, estese su porzioni del lembo di superficie e forma variabi-

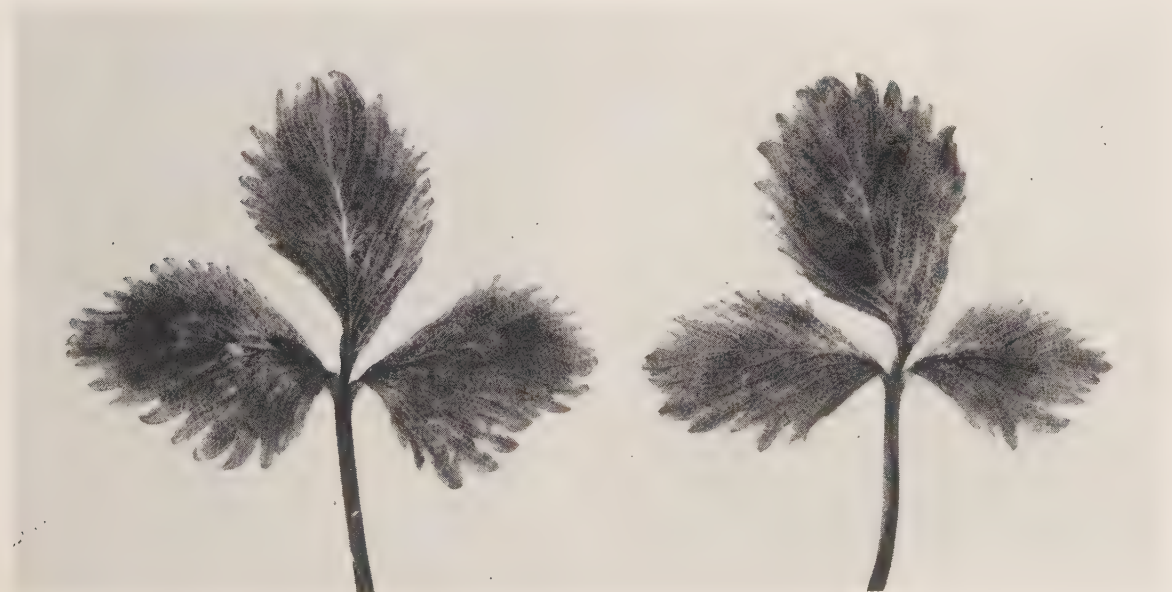


Fig. 3. - Nelle foglie affette da nanismo oltre alla riduzione in superficie della lamina, si osserva una clorosi nervale che interessa tutti gli ordini di elementi.

lissima; queste, in seguito alla espansione del lembo si congiungono, di sovente, fra di loro in macchie più ampie cosicché la maggior parte della lamina presenta clorosi pressoché diffusa, interrotta solo da piccole e più o meno numerose macchie di un verde normale. La maculatura può risultare distribuita sull'intera lamina — come per lo più accade — o solo su parte di questa. Inizialmente (foglie giovani) la decolorazione interessa essenzialmente il parenchima internervale, ma in seguito si estende anche alle nervature. Essa si può osservare per la prima volta, nelle giovani foglie in accrescimento (ancora quando queste presentano il lembo ripiegato), 11-13 giorni dopo la infezione e continua a manifestarsi con intensità progressivamente attenuata sulle foglie che successivamente si formano. Accompagnano questa alterazione una leggera diminuzione dello sviluppo dell'intero organo (lamina e picciolo) e, talvolta, una deformazione, rugosità e ripiegamento del lembo.

b) mosaico bolloso, in questo il lembo presenta una più o meno marcata, numerosa e estesa bollosità del parenchima, accompagnata da una decolorazione poco intensa e sfumata di questo e da un imbianchimento delle nervature.

La bollosità consiste in piccole deformazioni del lembo, con la parte convessa nella pagina superiore, delimitata da due nervature principali o secondarie, più frequente e marcata nella porzione centrale della foglia. Questa appare così, di forma anormale, con portamento talvolta, inconsueto: le due metà tendenzialmente inclinate verso il basso e così la parte distale.

La decolorazione interessa piccole porzioni della lamina, di forma molto irregolare,

marcatamente sfumate ai margini, comprese fra due bollosità.

L'imbianchimento nervale si avverte su ogni ordine di elementi e particolarmente in determinate porzioni del lembo: quelle non interessate dalla bollosità. Ad esso si accompagna, talvolta, una distorsione degli stessi elementi ed una anormale ramificazione. Queste alterazioni degli elementi meccanici-conduttori della foglia sono le prime ad osservarsi sull'organo in fase di attivo accrescimento. Ad esse, verosimilmente è collegato un minore sviluppo dei tessuti da cui la deformazione del parenchima internervale.

L'intera foglia risulta di dimensioni più piccole, spesso asimmetrica, e presenta, al tatto, una consistenza superiore alla norma. Anche la seghettatura del bordo, appare anormalmente differenziata e distribuita.

Le manifestazioni patologiche ora ricordate si differenziano a partire da 21-25 giorni dopo la inoculazione.

c) mosaico e nanismo, cioè comparsa di una maculatura clorotica del tipo di quella descritta alla lettera a), seguita e accompagnata da un'accentuata riduzione di sviluppo della foglia.

Inizialmente — 7-9 giorni dopo il trapianto degli afidi — sulle foglie giovani in accrescimento (fase di distensione avanzata della lamina) si nota una epinastia a carico delle singole foglioline per cui queste risultano ripiegate verso il basso e con il bordo tendenzialmente rivolto verso la pagina inferiore. Tale fenomeno può interessare anche la foglia successiva ma, più comunemente questa, come le altre (in genere 2-3) che si formano poi, presentano una accentuata disformità di accrescimento fra i tre lembi (per lo più uno o tutte e due quelli di base rimangono molto piccoli) e deformazioni più o meno accentuate di questi, con isole di tessuti necrotici in corrispondenza di zone al margine, ove maggiore risulta l'inibizione di espansione dei tessuti parenchimatici. Su questi stessi organi fogliari, ed ancora più su quelli che si sviluppano in seguito, appare la maculatura clorotica a piccole e irregolari areole clorotiche, cioè del tipo, grosso modo, descritto in precedenza. Nel primo periodo della comparsa della alterazione cromatica, spesso si avverte anche una accentuata decolorazione del lembo in una fascia al bordo di questo, che si estende per qualche millimetro verso l'interno, ove si confonde con la maculatura clorotica.

Tutte queste foglie presentano un picciolo molto corto e il lembo di superficie più o meno ridotta.

Successivamente — all'incirca 23-25 giorni dopo l'inoculazione — iniziano a differenziarsi foglie di forma pressoché normale,



Fig. 4. - Pianta di *F. vesca* che presenta i primi sintomi del nanismo associato a mosaico.



Fig. 5. - Prime manifestazioni del mosaico bolloso su pianta test.



Fig. 6. - Pianta di *F. vesca* con sintomi di mosaico e nanismo.

ma molto più piccole, con picciolo cortissimo e lembo leggermente arricciato e con maculatura clorotica. La pianta intera, dopo qualche tempo, viene ad assumere così un aspetto di nanismo come chiaramente è riprodotto nella figura n. 7.

Gli esemplari di *F. vesca* con questo tipo di infezione, non producono, o solo limitatamente, stoloni (nel quale caso sono molto piccoli, disformi e portano piante con foglie con le stesse manifestazioni patologiche degli organi appartenenti alla rosetta centra-



Fig. 7. - (Sopra) *F. vesca* affetta da nanismo.

Fig. 8. - (Di fianco) Fragola di monte con le manifestazioni dell'arricciamento.

le), e nello spazio di tempo di qualche mese, muoiono.

d) nanismo, riduzione di sviluppo della parte epigea delle piante più o meno accentuata, preceduta da alcune anomalie cromatiche delle foglie. Distinguiamo quest'ultime in una maculatura clorotica a piccole areole, di forma, dimensioni e frequenza assai variabile — analoga a quella descritta a proposito del mosaico — e, in una clorosi nervale che interessa tutti gli ordini di elementi fibro-vascolari in un modo tale che l'intera lamina appare percorsa, nelle varie direzioni, da una fine e irregolare reticolatura clorotica.

Tali manifestazioni, visibili già sui giovani elementi in formazione, appaiono all'incirca 11-15 giorni dopo la contaminazione, per lo più isolatamente, su piante distinte; solo di rado si è osservata una loro associazione nello stesso materiale. Ad esse si accompagna essenzialmente, una riduzione di espansione della lamina e di allungamento del picciolo.

Successivamente le forme di mosaico ora ricordate tendono ad attenuarsi fino a mascherarsi completamente nelle foglie che compaiono all'incirca un mese dopo l'infezione, mentre più accentuata si presenta la riduzione di sviluppo. La pianta intera, quindi, a partire da un certo momento appare di aspetto pressoché normale, se si esclude il nanismo che interessa tutta la vegetazione epigea.

e) arricciamento, consiste in una accentuata deformazione e anormale portamento del lembo, per un disforme accrescimento fra porzioni di tessuti componenti.

Le prime manifestazioni dell'alterazione si avvertono circa 15-18 giorni dopo il trapianto degli afidi e, come per tutte le forme patologiche precedenti, sulle foglie più giovani. Queste man mano si accrescono, presentano la lamina profondamente alterata, cioè: corrugata, bollosa, arricciata, ricurva, a espansione irregolare e asimmetrica. Generalmente le tre foglioline hanno uno sviluppo diverso. Il picciolo, poi, rimane molto corto e quindi tutta la vegetazione epigea più o

meno strettamente raccolta attorno al centro vegetativo.

Si associano alle anomalie morfologiche della lamina decolorazioni di piccole porzioni di tessuti (parenchimatici e nervali assieme) e, inizialmente, di tutte le nervature in forma di fine reticolatura clorotica. Le areole decolorate sono, quasi sempre, centrate su una nervatura e talvolta degenerano in necrosi causando il disseccamento di ampie porzioni del lembo.

Abbiamo, nel corso del periodo di tempo precedentemente accennato, limitato i nostri rilievi in parola alle coltivazioni che si estendono attorno alla città di Imola (queste raggiungono attualmente una superficie complessiva di circa ha 1100). Nell'insieme sono state saggiate 963 piante, scelte a caso in 27 appezzamenti diversi e variamente localizzati nella zona citata; piante di differente età e appartenenti a tre cultivar commerciali: « Madame Moutot », « Climax », « Souvenir de Charles Machiroux » (Tab. I).

Tutte le piante esaminate sono risultate, indiscutibilmente, affette da virus. Ciò secondo forme contagiose varie, come si rileva dai dati riassunti nella Tab. II.

TABELLA I. - Numero di piante saggiate, varietà e appezzamenti di raccolta.

V a r i e t à	Numero di piante saggiate	Appezzam. di raccolta n.
M. Moutot	708	19
Climax	162	5
S. C. Machiroux	93	3

Il numero di piante saggiate, rispetto alla estensione della superficie coltivata con la specie da frutto è, invero, piuttosto modesto. Tuttavia l'uniformità dei risultati conseguiti, in merito allo scopo principale della nostra ricerca — frequenza delle infezioni da virus nei fragoleti nostrani — permette di considerare, nonostante il numero limitato

TABELLA II. - Frequenza dei tipi di infezione nelle diverse varietà.

Quadro sintomatologico	« M. Moutot »		« Climax »		« S. C. Machiroux »	
	N. piante	%	N. piante	%	N. piante	%
Mosaico leggero	303	42,7	84	51,8	35	37,6
Mosaico bolloso	49	6,9	9	5,5	22	23,6
Mosaico e nanismo . . .	178	25,4	51	31,6	14	15,2
Nanismo	103	14,5	—	—	3	3,2
Arricciamento	75	10,5	18	11,1	19	20,4



Fig. 9. - Sintomi di arricciamento su foglie di *Fragaria vesca*.

di osservazioni, la ricerca sufficientemente probante.

Il fatto della totale contaminazione da virus delle piante di fragola coltivate nella citata località emiliana, non può sorprendere per varie ragioni. Non può sorprendere i fitopatologi in genere o chiunque altro abbia sufficiente cognizione sul comportamento di queste malattie contagiose, in rapporto essenzialmente al tipo di pianta in oggetto. Agli uni e agli altri certamente non sono sfuggiti, tra l'altro, i rilievi condotti di recente in qualche paese dell'Europa centro-settentrionale sulla diffusione delle virosi nei fragoletti: il cento per cento di piante ammalate. Non può sorprendere, infine, i tecnici e gli agricoltori stessi, qualora questi pongano mente ad alcune caratteristiche essenziali degli agenti virali: come la loro diffusione sistemica nell'ospite e la agevole trasmissione da pianta a pianta anche ad opera degli afidi; e a determinate pratiche agronomiche come la moltiplicazione delle piante mediante materiale ottenuto indiscriminatamente dalle colture precedenti senza un minimo controllo, neppure visivo, per quanto concerne lo stato sanitario di queste.

Ad eccezione del primo mosaico leggero, e forse del secondo mosaico bolloso, i quadri sintomatologici descritti su *F. vesca* devono essere ritenuti prodotti da associazioni di entità contagiose diverse. Forse da quelle associazioni virali già ampiamente note altrove e che secondo opportuni

rilievi risultano essere le forme infettive che maggiormente incidono sulla produttività e vitalità delle piante. Il semplice rilevamento delle manifestazioni patologiche da esse prodotte sul materiale in pieno campo (come si possono notare poco dopo la vegetazione primaverile) o su quello di « saggio » (*F. vesca*), come abbiamo fatto, appaiono senz'altro insufficienti ad una loro più esatta caratterizzazione. E ciò per motivi diversi che riteniamo superfluo richiamare. Tale esatta caratterizzazione, invece, rappresenta l'argomento di lavoro già iniziato e attualmente in svolgimento, di un altro settore della nostra attività di studio sulla « degenerazione » da virus della fragola. La forma più comune di inquinamento da virus presente nei fragoletti dell'Imolese, però, risulta essere quella di un'unica entità contagiosa che già, in parte, abbiamo meglio individuato come di tipo non persistente e facilmente inattivabile, nell'interno delle piante stesse, ad una temperatura di 35-36°C. Nelle più comuni varietà commerciali da frutto essa, inoltre, non è causa di particolarmente vistose manifestazioni patologiche (si trova per lo più in forma latente) e di una marcata depressione vegetativa e produttiva della pianta.

Riassunto

Allo scopo di accertare la frequenza delle virosi nei fragoletti dell'imolese — zona tipica dell'Emilia di coltivazione della pianta — sono state intraprese negli anni 1958-1959 opportune ricerche.

Queste sono consistite essenzialmente nel saggio obiettivo delle colture effettuato con l'impiego della pianta-test *Fragaria vesca*. Sono state prelevate, da numerose piante in campo, e da appezzamenti diversi, uno-due foglie giovani con colonie di *Pentatrichopus fragaefolii* da ognuna delle quali venivano prelevati 4-5 individui che poi venivano fatti alimentare in esemplari di *Fragaria vesca* coltivati in vaso.

Gli afidi erano devitalizzati dopo 6 giorni di permanenza sulla *F. vesca* e le piante rivelatrici erano conservate per un periodo di circa due mesi onde osservare tutti i diversi sintomi.

Le diverse manifestazioni sintomatologiche osservabili sono state raggruppate in categorie distinte in modo da tener conto, sia pure approssimativamente, delle possibili entità virali presenti e loro associazioni; precisamente si sono distinti:

a) mosaico leggero: consistente in lievi maculature giallo-verdi della lamina fogliare;

b) mosaico bolloso: decolorazioni poco intense della foglia accompagnate da forti bollosità e dimensioni ridotte della lamina;

c) mosaico e nanismo: l'alterazione cromatica è simile a quella descritta in a) ed è accompagnata da accentuata riduzione della lamina fogliare e del picciolo, bollosità e necrosi. Tutta la pianta rimane nana e produce scarsi stoloni;

d) nanismo: caratterizzato da riduzione di sviluppo della vegetazione accompagnata da alterazioni cromatiche transitorie sulle foglie;

e) arricciamento: forte deformazione

del lembo fogliare per disforme accrescimento dei tessuti.

Sono state in complesso saggiate 963 piante di fragola di tre varietà e raccolte in 27 diversi appezzamenti (Tab. I).

Tutte le piante saggiate sono state riscontrate affette da virus producenti quadri sintomatologici diversi e con diversa frequenza (Tab. II). Sono apparsi generalmente più frequenti il mosaico leggero ed il mosaico e nanismo.

Summary

OCCURRENCE OF VIRUS DISEASES IN STRAWBERRY CROPS IN THE IMOLA TERRITORY

In order to detect the frequency of the virus diseases in the Strawberry beds in the Imola territory — an area typical in Emilia for the cultivation of Strawberries — research was undertaken in 1958 and 1959.

This consisted essentially in an objective test of the crops by means of test-plants *Fragaria vesca*. From each of several plants in the field, out of several lots, were taken one or two young leaves with colonies of *Pentatrichopus fragaefolii*, and from each of them were taken 4-5 individuals that were then fed on plants of *F. vesca*, growing in pots. The aphids were killed after 6 day's permanence on *F. vesca* and the test plants were kept for about two months in order to observe all their different symptoms.

The different visible symptoms were grouped into distinct categories so that the possible virus diseases and their associations could be taken into account, even though approximately.

The categories were the following:

a) light mosaic: consisting of light yellow-green spots on the leaves;

b) blistering mosaic: faint decolorizations of the leaf together with strong blistering and reduced blade size;

c) mosaic and dwarf: the chromatic anomaly similar to that described in a), together with strong reduction of the blade and petiole, blistering and necrosis. The whole plant remains dwarf and produces only few stolons;

d) dwarf: reduction of development of the plant together with transitory chromatic alterations of the leaves;

e) curling: strong deformations of the blade caused by unequal growth of the blade tissues.

On the whole 963 Strawberry plants of three varieties were tested, picked from 27 different lots (Tab. I). All tested plants were found to be affected with virus producing different symptoms and with a different frequency (Tab. II).

The light mosaic and mosaic with dwarf were generally more frequent.

Résumé

FRÉQUENCE DES MALADIES À VIRUS DANS LES FRAISIÈRES DE LA RÉGION D'IMOLA

Pendant les années 1958-59 on a entrepris d'opportunes recherches dans le but de vérifier

la fréquence des maladies à virus dans les fraisières de la région d'Imola, zone typique de l'Emilie pour cette culture.

Ces recherches ont essentiellement consisté dans l'essai objectif des cultures effectuées par l'emploi de la plante-test *Fragaria vesca*.

On a prélevé de nombreuses plantes cultivées en champ et de chaque de différentes places une ou deux feuilles jeunes avec des groupes de *Pentatrichopus fragaefolii*, et on retirait de chacune d'entre elles 4-5 individus qu'on alimentait ensuite sur des exemplaires de *Fragaria vesca* cultivés dans des pots.

Les aphidiens étaient tués après 6 jours de permanence sur la *F. vesca* et les plantes révélatrices étaient conservées, pendant presque 2 mois, afin d'observer tous les différents symptômes.

Les différentes manifestations symptomatologiques observables ont été groupées en catégories distinctes, de façon à tenir compte, même si ce n'est qu'approximativement, des possibles virus présents et de leurs associations.

On a distinguées surtout:

a) mosaïque légère: consistant en de légères taches jaune-vertes de la feuille;

b) mosaïque cloqué: décolorations peu intenses de la feuille accompagnées de cloques et dimensions réduites de la feuille;

c) mosaïque et nanisme: l'altération chromatique est semblable à l'altération décrite dans a) et elle est accompagnée d'une réduction accentuée de la feuille et du pétiole, cloques et nécroses. Toute la plante reste naine et ne produit que peu de stolons.

d) nanisme: caractérisé par la réduction de développement de la végétation accompagnée d'altérations chromatiques transitoires sur les feuilles.

e) enroulement: fortes déformations de la feuille pour un difforme accroissement des tissus.

Dans l'ensemble on a expérimenté 963 plantes de Fraises de 3 variétés, cueillies sur 27 différents places. (Tab. I).

On a contrôlé que toutes les plantes essayées étaient affectées d'un virus, produisant des symptomatologies différentes et avec une fréquence différente (Tab. II).

On a pu remarquer que la mosaïque légère et la mosaïque associée au nanisme sont en général les plus fréquentes.

LAVORI CITATI

- CANOVA A., 1960. Ricerche sui virus della fragola. I - *Phytopat. medit.*, 1, 5-15.
- CANOVA A. e A. QUAGLIA, 1961. Infestazione afidica nei fragoletti in rapporto alla diffusione delle virosi (*in preparazione*).
- FRASIER N. W. e A. F. POSNETTE, 1958. Relationships of the strawberry viruses of England and California. *Hilgardia*, 27, 455-513.
- GOIDANICH C. e A. CANOVA, 1959. La degenerazione da virus della fragola. *Progr. Agr.*, 5, 751-764.

Relationship of root-knot nematodes and *Fusarium*-wilt of Cotton in Egyptian soils

by MOUSTAFA K. ABO-EL-DAHAB.

C.D.U. 632.488.45 *Fusarium vasinfectum* :
632.651 *Meloidogyne hapla* [633.511] (62)

Fusarium wilt was first reported in Egypt in 1927 by Fahmy (1927), who stated that it was wide spread in the Delta. Dunn (1949), reported that the *Fusarium* wilt is the most important Cotton disease in Egypt.

As early as 1892 Atkinson (1892) suggested that there is a relation between soil infestation with nematodes and severe wilt in Cotton. Smith (1948) and Newson and Martin (1953), reported separately that the Cotton wilt organism as well as nematodes were controlled by soil fumigation with ethylene dibromide which is known to have an effect on nematodes only. Martin *et al.* (1956) found that out of the following plant parasitic nematodes, *Meloidogyne*, *Trichodorus*, *Tylenchorhynchus*, *Helicotylenchus* and *Pratylenchus*, only *Meloidogyne incognita* (Kof. et White) Chitw. and *M. incognita acrita* Chitw. significantly increased the incidence of *Fusarium* wilt in the tested Cotton varieties.

As far as the writer is aware, no reports have ever been published concerning the existence of the *Fusarium*-nematode association in cotton fields in Egypt.

In preliminary field investigations ⁽¹⁾ the « Karnak » Cotton variety, that is considered to be the most susceptible to *Fusarium* wilt, was planted under field conditions in non-sterile soil that had been previously infested with the wilt organism *Fusarium oxysporum* f. *vasinfectum* (Atk.) Snyder et Hans. In another set of plants from the same variety, the fungus was applied to artificially wounded roots of young seedlings. The mean percentage of wilt-affected plants was found

to be 9,8 % when the soil was infested with *Fusarium*, 10,3 % when the fungus was applied to soil after plant roots had been wounded, and 9,23 % when no inoculum was added to the soil. It was obvious that the fungus was not able to produce severe wilt symptoms, neither when applied to the soil before planting nor when added to the wounded roots. As long as the percentage of wilted plants in infested and noninfested soil was almost the same, the wilt obtained in all treatments was not attributable to the added *Fusarium* organism only but might also have been due to some other factors in the soil.

Therefore, it seems conceivable to assume that there is some kind of association between the wilt organism and some species of soil inhabiting plant parasitic nematodes in the Egyptian soil. The present work was initiated to find out whether such an association exists in case of *Fusarium* wilt of Cotton in Egypt.

Material and methods

The effect of the root-knot nematode *Meloidogyne* spp., and of the wilt organism *F. oxysporum vasinfectum*, was studied both separately and together on four Egyptian Cotton varieties: « Karnak », « Menofi », « Giza 30 » and « Giza 51 ». The soil used was

⁽¹⁾ This preliminary work was carried out jointly with Mr. M. A. Bakry of the Plant Path. Dept., Ministry of Agric., Egypt, U.A.R.



Fig. 1. - Tomato roots: healthy on the right, root-knotted on the left.

steam sterilized and left for two weeks to get rid of nitrites which might accumulate due to steam sterilization. The root-knot nematodes used in this investigation were propagated on Tomato plants, grown for four months, on soil naturally infested with root-knot nematodes at the University farm, Mallaha, Alexandria. Root-knot symptoms on Tomato roots are shown in Fig. 1.

Root-knots collected from diseased Tomato roots were thoroughly washed, macerated and then added to some water to form a suspension of nematode eggs. Each pot received ml 20 of the thoroughly shaken sus-

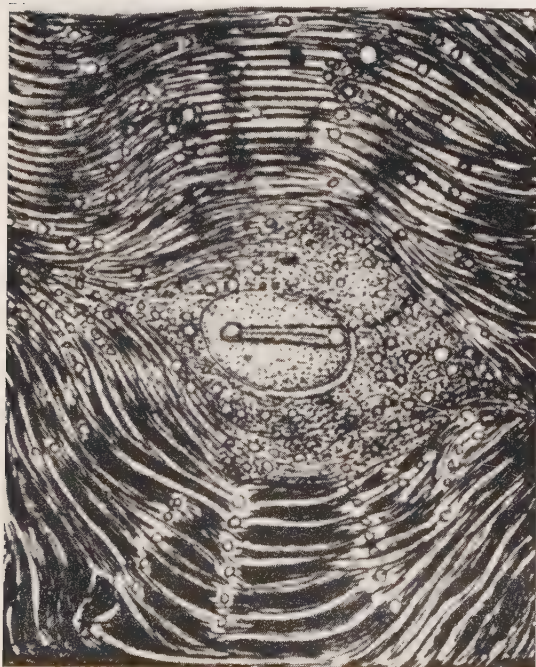


Fig. 2. - Perineal pattern of the root-knot nematode *Meloidogyne hapla* found infesting the soil of the University farm, Alexandria, Egypt.

sension. The two *Fusarium* strains, used in this work, were previously isolated by the writer from diseased plants of the « Karnak » and « Menofi » Cotton varieties, received from Kafr-El-Sheikh and Sharkia provinces, in 1958. Cultures were maintained on P.D.A. slants covered with mineral oil to preserve their pathogenicity. Ten-days old cultures of the two strains were mixed together and added to pots as a finely blended mycelium and spore suspension. Each infested pot received ml 20 of the suspension.

Each of the four varieties of Cotton was subjected to five different soil treatments: 1) infested with *Fusarium* alone, 2) infested with both root-knot nematode and *Fusarium*, 3) infested with root-knot nematode alone, 4) noninfested, nonsterilized soil, and: 5) noninfested sterilized soil.

Five cotton seeds were placed in the center of each pot and only two plants were left to grow, in each pot, after germination. Each treatment was replicated three times, and pots were arranged in a randomized block design, and kept in the open.

Identification of the root-knot nematode

Before undertaking the investigation outlined in the introduction, a careful study was made on the root-knots found on Tomato roots grown on naturally infested soils in the University farm at Mallaha, Alexandria, to identify the nematode species involved in this investigation.

Chitwood's (1949) method of differentiation of *Meloidogyne* species was followed. Of the characteristics used by Chitwood, the perineal pattern of the adult female was the most dependable for identification. Pieces of Tomato roots containing mature females were cut and immersed in 5 % formaldehyde solution for 24 hours. Individual females were seen in root-cross-sections as shiny spots embedded in the tissues. With a thin dissecting needle, individual females were carefully removed and put on clean slide. The posterior third of the female was cut with a sharp pointed scalpel. The portion of the female body containing the perineal region was placed on another dry slide, with the posterior end upwards. A coverslip was placed on the specimen and a small drop of lactophenol was applied, where it could be drawn under the cover. Two hundred specimens, taken from several Tomato plants, were prepared in the manner described, and examined carefully under the oil immersion lens. Figure 2 shows the perineal pattern of the isolated nematodes which is identical to that described by Sasser (1954) for *M. hapla* Chitw. The fringes that form the low arches of the pattern tend to fuse together

TABLE I. - Mean percentage of wilt affected plants of four Cotton varieties after 180 days of growth, on sterilized soil treated with *Fusarium*, *Fusarium* + root-knot nematode, root knot nematode alone, nonsterile noninfested soil, and noninfested sterile soil.

Variety	T r e a t m e n t					L. S. D.	
	<i>F. oxysporum</i> <i>vasinfectum</i>	<i>F. oxysporum</i> <i>M. hapla</i>	<i>M. hapla</i>	Non sterile non-infested soil	Sterile non-infested soil	5 %	1 %
« Karnak » . .	49.2	99.6	33.2	33.2	0	10,08	14,28
« Giza 30 » . .	33.2	99.6	49.2	16.6	0	11,90	15,90
« Menofi » . .	33.2	83.0	16.6	16.6	0	8,30	11,14
« Giza 51 » . .	41.6	83.0	16.6	16.6	0	11,40	15,30

at the two lateral sides. Therefore it could be safely concluded that the species of root-knot nematode infesting the soil of the University farm is identical to *M. hapla*.

Experimental results

Data on wilt were taken according to the external symptoms (dwarfing and leaf chlorosis). In doubtful cases, the petioles were examined for vascular discoloration. Wilt affected plants were allowed to remain in pots throughout the course of the experiment. The mean percentage of wilt affected plants based on external symptoms only was evaluated monthly and recorded graphically for the Cotton varieties used (Fig. 3).

Examination of the curves shows that when the root-knot nematode was added along with the wilt organism severe dwarfing and leaf chlorosis occurred on the tested plants of the four Cotton varieties.

The « Manofi » and « Giza 51 » varieties, however, proved to be less susceptible to root-knot nematodes than the « Karnak » and « Giza 30 » varieties, when grown on soil infested with nematodes only. The « Karnak » variety showed a comparatively higher degree of susceptibility to the root-knot nematode alone than any of the other three varieties.

All varieties were moderately affected by the wilt organism when added alone; the degree of wilt in this case was certainly far below that displayed by plants grown on soil receiving both the nematode and the *Fusarium*. Figures 4 and 5 show the effect of the association of the root-knot nematodes and the wilt organism on the four Cotton varieties in the test.

At the end of the experiment, data were also taken on basis of vascular discoloration at the crown of each plant, and the results are shown in Table I.

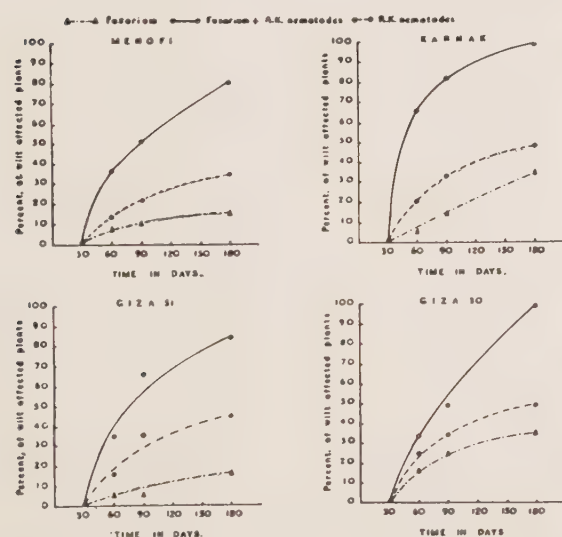


Fig. 3. - The effect of soil infestation with *Fusarium* organism alone, root-knot nematode alone, and a mixture of both organisms on the development of wilt diseases during the growth of four Cotton varieties.



Fig. 4. - Wilt affected plants of « Karnak » and « Giza 30 » Cotton varieties: 1) *Fusarium* alone; 2) *Fusarium* plus root-knot nematodes; 3) root-knot nematodes alone; 4) nonsterile, noninfested soil; 5) sterile, noninfested soil.

Data shown in Table I which were taken on the basis of internal symptoms coincide with those taken on the basis of external symptoms in that the presence of both the wilt organism and the root-knot nematodes increase the incidence of the disease. « Giza 30 » variety showed relatively high percentage of vascular discoloration (49,2 %) on plants grown on soils that were infested with *M. hapla* alone. However, where *F. oxysporum vasinfectum* was added alone, plants of the same varieties showed comparatively lower percentage (33,2 %) of discolored plants.

« Menofi » and « Giza 51 » varieties proved again to be less susceptible to root-knot nematodes alone, with mean percentage of 16,6 % for both varieties. However, they are almost as susceptible as « Karnak » and « Giza 30 » to the wilt organism alone.



Fig. 5. - Wilt affected plants of « Menofi » and « Giza 51 » Cotton varieties: 1) *Fusarium* alone; 2) *Fusarium* plus root-knot nematodes; 3) root-knot nematodes alone; 4) nonsterile, noninfested soil; 5) sterile, noninfested soil.

Acknowledgments

The author wishes to express his thanks to Prof. A. F. EL-HELALY for his valuable advice and criticisms during the preparation of this paper.

The author expresses his particular appreciation to the members of the Agronomy Division of the Plant Production Department who offered their help during the course of these investigation.

Summary

On the basis of the results obtained from this investigation it can be concluded that all the four Cotton varieties tested are highly susceptible to wilt disease where root-knot nematode *Meloidogyne hapla* (Chitw.) and *Fusarium oxysporum* f. *vasinfectum* (Atk.) Snyd. et Hans. are present together in the soil. However, high soil infestation with root-knot nematode

alone can cause severe wilt symptoms to certain Cotton varieties as the case of « Giza 30 » and « Karnak » varieties.

Since it is evident from the data presented in this paper that high susceptibility to root-knot organism in a Cotton variety is correlated with high susceptibility to the *Fusarium*-nematode association, the author believes that the susceptibility of the newly developed Cotton varieties should be related not only to the wilt organism but also to the root knot nematodes as well as to their combination.

Smith (1953) reported that root-knots, formed on infected Cotton roots, may decay and leave the ends of the water conducting vessels exposed to soil-borne organisms, particularly *Fusaria*. The writer believes that the nature of *Fusarium*-nematode association is not that simple, since artificial infection of wounded roots with *F. oxysporum vasinfectum* alone failed to cause severe or complete wilt symptoms. Further work is still needed in order that the nature of such an association may be understood.

Résumé

RELATION ENTRE LES NEMATODES DES RACINES ET LE FLÉTRISSEMENT PAR *FUSARIUM* DU COTONNIER DANS LES SOLS EGYPTIENS

Sur la base des résultats obtenus en ce travail, l'Auteur a pu venir à la conclusion que les quatre variétés de Cotonnier essayées sont très susceptibles au flétrissement qui se manifeste lorsque des nématodes formant des galles sur les racines (*Meloidogyne hapla* Chitw.) et *Fusarium oxysporum* f. *vasinfectum* (Atk.) Snyd. et Hans. sont présents ensemble dans le sol.

Cependant, une élevée infestation du sol, due uniquement aux nématodes peut causer des intenses symptômes de flétrissement sur quelques variétés de Cotonnier, comme « Giza 30 » et « Karnak ».

Les résultats exposés dans ce travail montrent que une élevée susceptibilité à *M. hapla* d'une variété de Cotonnier est en corrélation avec une élevée susceptibilité à l'association *Fusarium*-nématode; et l'Auteur croit que la susceptibilité des nouvelles variétés de Cotonnier récemment répandues dans le Pays devrait être mise en relation non seulement avec l'organisme du flétrissement, mais aussi avec les nématodes des racines et avec la combinaison de ces diverses parasites.

Smith (1953) a supposé que les galles formées sur les racines du Cotonnier peuvent déchoir et laisser les extrémités des vaisseaux du bois exposées aux organismes du sol, en particulier au *Fusaria*.

L'Auteur croit que la nature de l'association *Fusarium*-nématode ne soit pas si simple, car des infections artificielles de racines blessées par *F. oxysporum vasinfectum* seulement, ne causèrent pas un intense ou complet flétrissement.

Des ultérieures recherches paraissent nécessaires pour comprendre la nature de cette association.

LITERATURE CITED

- ATKINSON, G. F., 1892. Some diseases of cotton. *Bull. Ala. agr. Exp. Sta.*, 41, 51 pp.
- CHITWOOD, B. G., 1949. Root knot nematodes Part 1. A revision of the Genus *Meloidogyne* Goeldi. *Proc. Helm. Soc. Wash.*, 16; 90-104.

- DUNN, R. P., 1949. Cotton in Egypt. National cotton council of America. Memphis, Tenn.
- FAHMY, T., 1927. The *Fusarium* disease of cotton (wilt) and its control. *Int. Rev. agric. Econ.*, 28, 305-306.
- MARTIN, W. J., L. D. NEWSON and J. E. JONES, 1956. Relationship of Nematodes to the development of *Fusarium* wilt in cotton. *Phytopathology*, 46, 285-289.
- NEWSON, L. D. and W. J. MARTIN, 1953. Effect of soil fumigation on populations of plant parasitic nematodes, incidence of *Fusarium* wilt, and yield of cotton. *Phytopathology*, 43, 292-293.
- SASSER, J. N., 1954. Identification and host-parasite relationships of certain root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.). *Bull. Md. agric. Exp. Sta.*, A. 77 (tech.), 31 pp.
- SMITH, A. L., 1948. Control of cotton wilt and Nematodes with soil fumigants. *Phytopathology*, 38, 943-947.
- SMITH, A. L., 1953. *Fusarium* and Nematodes on cotton. In: Plant Diseases. The yearbook of Agriculture 1953. U. S. Dep. Agriculture, Washington, 272-298.

La septoriosi («Pasma») del Lino (*Linum usitatissimum* L.) in Italia

di GIOVANNI P. MARTELLI

C.D.U. 632.482.193.7 Myco-
sphaerella linorum: 633.521 (45)

Nella seconda metà di maggio del 1959, nel corso di una visita all'azienda « Lamaforca », situata nell'agro di Ostuni (Brindisi), ebbi occasione di osservare una coltura di Lino da seme, ormai molto prossimo alla maturazione, che mostrava i sintomi di una grave alterazione.

Sparse nell'appezzamento si distinguevano numerose e vaste aree approssimativamente circolari, che spiccavano sul resto della vegetazione ed erano costituite da piante fortemente imbrunite, quasi del tutto prive di foglie o completamente disseccate. Esse avevano anche altezza inferiore e stelo più esile delle piante circostanti. Le capsule, danneggiate in varia misura, portavano semi striminziti o erano abortite.

Sui fusti, si osservavano lungo tutto l'asse principale e sulle ramificazioni, tratti di tessuto imbrunito, localizzati di preferenza intorno all'inserzione delle foglie, che, alterandosi con zone verdi, facevano loro acquistare un tipico aspetto variegato (Fig. 1).

Le foglie mostravano sulla lamina macchie scure, rotondeggianti, o ampi tratti del lembo imbruniti ed in via di disseccamento o disseccati (Fig. 2). Spesso tali macchie erano ancora distinguibili sulle foglie già del tutto secche, rimanendo esse di tonalità più scura del fondo uniformemente imbrunito della lamina.

Anche ad occhio nudo, sulla superficie degli organi lesi (fusto, foglie, capsule), si osservavano numerosi corpiccioli subsferici, neri (Fig. 3).

All'esame microscopico questi corpi si

presentarono, come fruttificazioni (picnidi) di uno Sferossidale riferibile al genere *Septoria* Sacc.

In natura tali picnidi misurano μ 90 (63-128) di diametro, sono subglobosi, neri, immersi, sparsi, occasionalmente gregari. Essi presentano un ostiolo tondeggiante o leggermente ellittico di μ 27 (20-36) di diametro.

In ambiente umido, dai picnidi fuoriescono cirri conidici biancastri di aspetto e consistenza cerosa (Fig. 4). I conidi sono subcilindrici, appena assottigliati alle estremità, dritti o curvuli, talvolta leggermente flessuosi, jalini, generalmente trisetati (79,4 %), ma frequentemente con uno (11,5 %) o due (8,6 %) setti, raramente con quattro o più (0,5 %). Essi misurano μ 2,5 (1,5-3) \times μ 21 (12,5-31,5).

I conidiofori sono piriformi o tronco-conici, continui o 1-settati, e misurano μ 7,5 (4,5-10) \times μ 3 (2-4,5) ⁽¹⁾.

Numerosi isolamenti effettuati da foglie, fusti e capsule, dettero, su vari substrati aggiustati a pH 5,5-6, colonie di crescita molto lenta, presentanti al 15° giorno i caratteri seguenti (colonie crescenti in tubi di coltura):

AGAR DI PATATE E SACCAROSIO (patate g 200, saccarosio g 10, agar g 20, acqua cc 1000).

Le colonie sono bianco-candide di mm 35 di diametro, depresse intorno all'inoculo ove

⁽¹⁾ Tutte le misurazioni riportate nella presente Nota sono state effettuate con preparati inclusi in lattofenolo.

sono abbondantemente ricoperte da masse mucose e rosate di conidi; margine continuo leggermente e uniformemente sollevato; micelio compatto di aspetto quasi feltroso; rovescio della colonia uniformemente bruno.

Aggiungendo al substrato precedente estratto di lievito (2 %), si osserva una più abbondante sporificazione, una tonalità marroncina delle masse conidiche ed una minore crescita (mm 24 di diametro).

Aggiungendo peptone (6 ‰), le colonie raggiungono mm 23 circa di diametro al 15° giorno; esse appaiono sollevate, fortemente plicate, quasi cerebriiformi. Il micelio è compattissimo, quasi stromatico alla periferia, di chiara tonalità grigia, molto vicina a: 1A, Pl.44, di Maerz e Paul (1950), più scura al centro, ove sono presenti numerose masserelle conidiche marroncine; il margine è sinuoso e affossa irregolarmente il substrato. Il rovescio della colonia è di tonalità ambracea.

AGAR DI CZAPEK-DOX.

Le colonie sono di circa mm 37 di diametro, compatte, feltrose, sollevate. Esse mostrano profondi solchi radiali e sono grigiastre, leggermente sporificate intorno all'inoculo, perifericamente di scura tonalità verde-olivacea (2C, Pl. 16, di Maerz e Paul, 1950). Il margine è continuo e bianco candido per circa mm 1-1,5. Esso affossa il substrato intorno a sè, fino a fessurarlo. Il rovescio della colonia è intensamente grigio-verdastro.

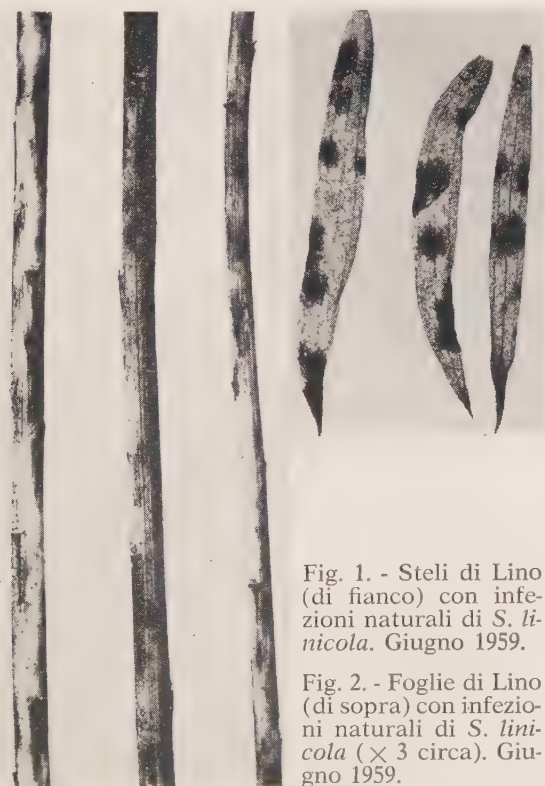


Fig. 1. - Steli di Lino (di fianco) con infezioni naturali di *S. linicola*. Giugno 1959.

Fig. 2. - Foglie di Lino (di sopra) con infezioni naturali di *S. linicola* ($\times 3$ circa). Giugno 1959.

AGAR DI MAIS (farina di mais g 50, agar g 20, acqua cc 1000).

Le colonie, di circa mm 28 di diametro, sono bianco-candide e basse. Esse presentano pochi conidi. Il micelio aereo è poco sviluppato, lanoso e uniformemente sollevato, meno che sull'inoculo, ove il micelio è depresso. Il margine è ramificato, il rovescio è bianco-grigiastro al centro e verde-olivaceo al margine.

In tutti i mezzi di coltura saggianti, la maggior o minor crescita del micelio e l'abbondanza della conidificazione sembrano essere in rapporto con la ricchezza del substrato.

In genere, i picnidi formati in coltura hanno dimensioni superiori a quelle dei picnidi che si differenziano sulla matrice in natura. Essi misurano μ 350-400 di diametro ⁽²⁾, sono sub-atri, subglobosi, isolati o raggruppati in aggregati botrioidi e disposti in cerchi concentrici al centro della colonia. A maturità essi presentano superiormente un'apertura irregolare, generalmente ellittica, da cui escono i conidi in piccole masse mucose di tonalità rosea o marroncina. I conidi sono assai simili a quelli che si osservano in natura, ma sono, in genere, leggermente più stretti e più lunghi, misurando μ 1,5 (1,3-2,5) \times μ 26 (13,5-37) (Fig. 5 d, e, f, g).

Anche in coltura, i conidi formano talvolta masse allungate, di consistenza ed aspetto ceroso, simili ai cirri prodotti in natura, ma di essi sempre più grandi e più intensamente colorate.

E, sempre in coltura, sono stati anche osservati alcuni particolari comportamenti del fungo, già messi in evidenza da alcuni autori.

Frammiste alle picnospore normali, difatti, su tutti i substrati impiegati, sono stati trovati conidi con una o più cellule intermedie ingrossate, ispessite nelle pareti, largamente ovali o quasi sferiche, talvolta mostranti contenuto granulare. In questi casi, in corrispondenza dei setti, l'episporio può apparire leggermente costretto.

Questi particolari conidi sono assai vicini a quelli descritti da Brentzel (1926), Garassini (1935) e Wollenweber (1938) e da Brentzel (1926) ritenuti simil a clamidospore; il che sembra presumibile, anche se non è dato per certo da Wollenweber (1938).

È stata anche osservata la formazione di conidi liberi, diritti o curvuli, in genere con un solo setto, occasionalmente trisetati, misuranti μ 2,5 (1,5-3) \times μ 19 (7,5-29), a volte portati su brevi e sottili sterigmi, da comuni filamenti vegetativi, altre volte originantisi, singoli o in pseudo-capitoli, spesso in posi-

⁽²⁾ Rost (1937) trovò in coltura picnidi con oltre μ 500 di diametro.

zione sub-sessile, da brevi protuberanze non settate, semplici, dense di plasma (Fig. 5a, b, c), aventi aspetto mammellonare o irregolarmente allungato e mostranti, in quest'ultimo caso, angoli per lo più di poco inferiori al retto con l'ifa portante.

Il fungo sommariamente descritto in questa nota, e per i suoi caratteri morfologici, e per il complesso dei sintomi osservabili sulle piante infette, non è sembrato diverso da *Septoria linicola* (Speg.) Gar., nella forma picnidica, e sembra poter essere riferito a *Septogloeum linicola* Speg., in quella presentante conidiofori liberi; ambedue forme imperfette di *Mycosphaerella linorum* (Wr.) Garcia-Rada. Questo parassita è agente di una nota malattia del Lino conosciuta per lo più col nome argentino di « Pasma » e che non sembrerebbe, dall'esame della bibliografia, essere stata ancora segnalata in Italia.

L'agente del « Pasma » del Lino fu descritto da Spegazzini (1911) nelle sue forme imperfette di *Septogloeum linicola* Speg., tuttora accettato e osservato poi in coltura da Wollenweber (1938) e in natura da Anselme (1960), e *Phlyctaena linicola* Speg.

Già Brentzel (1926) notò che *P. linicola* presentava caratteri tipici del genere *Septoria* Sacc.; e Garassini (1938), lo riportò a

Septoria linicola (Speg.) Gr.

Wollenweber (1938) ne descrisse la forma ascofora, che chiamò dapprima *Sphaerella linicola* Wr., e poi *S. linorum* Wr., per evitare che sorgessero confusioni con funghi simili, ma che hanno periteci più grossi: *Mycosphaerella linicola* Naoum. (1926) e *M. linicola* var. *latispora* Rothers (1927), descritti su steli di Lino in Russia.

Sphaerella linorum Wr. è ora più generalmente accettata come *Mycosphaerella linorum* (Wr.) Garcia-Rada.

In Montenegro, su steli morti di *Linum laeve* Scop. esistono una *Mycosphaerella drobnjakensis* Bub. (sub: *Sphaerella drobnjakensis* Bub.) e la sua varietà *confinium* Bub. (Bubak, 1915) e su steli morti di *Linum capitatum* Kit. è stata descritta *Rhabdospora linicola* Bub. (Bubak, 1915). Benché Wollenweber (1938) si mostri propenso ad accettare le entità sistematiche di Naumov, di Rothers e di Bubak, per concludere che *S. linicola* è stata importata dall'America del Sud o del Nord, pure sembra che sarebbe assai utile al proposito l'esame di materiale originale, perché l'attuale esistenza di specie diverse, eppure così vicine, pare poco convincente.

* * *

Per saggiare la patogenicità del fungo si eseguirono due serie di inoculazioni. Nella prima, si utilizzarono 12 gruppi di piante di Lino della cultivar « DR 61 », ciascuno costituito da una ventina di esse, cresciute in pieno campo e prossime alla fioritura. Di questi gruppi, 6 furono inoculati spruzzandovi una sospensione in acqua sterile di conidi prodotti dai picnidi di piante naturalmente infette, e 6, lasciati come testimoni, furono spruzzati con sola acqua sterile.

Le inoculazioni furono effettuate nel tardo pomeriggio del 1/6/1959. Tutte le piante, anche i testimoni, furono protette con involucri di politene, all'interno dei quali quotidianamente si spruzzava acqua sterile, per mantenere l'atmosfera umida. Le coperture di sei gruppi di piante furono tolte il 4/6/1959 e quelle degli altri sei gruppi il 6/6/1959. Le prime macchie si osservarono il 6/6/1959, a distanza cioè di cinque giorni dall'inoculo. Esse si espansero rapidamente. Il fungo fu reisolato in coltura.

Nella seconda serie di inoculazioni furono ancora adoperate piante di Lino della medesima cultivar « DR 61 », dell'altezza di una ventina di centimetri, fatte crescere in vaso. In ogni vaso si trovavano 15-20 piante. Furono impiegati 12 vasi e, di essi, 6 furono spruzzati con una sospensione in acqua sterile di conidi prodotti in coltura monosporica, e gli altri 6, spruzzati con acqua sterile, furono lasciati come testimoni.



Fig. 3. - (a sinistra) Picnidi di *S. linicola* su di uno stelo disseccato di Lino (x 6 circa). Giugno 1959. — (a destra) Cirri di conidi prodotti da picnidi di *S. linicola* dopo 48 ore in camera umida (x 7 circa). Giugno 1959.

Dei 12 gruppi, 4 (2 inoculati e 2 testimoni) furono posti sotto campane di vetro e 8 (4 inoculati e 4 testimoni) furono protetti con involucri di polietilene; tutti furono tenuti in laboratorio a temperatura ambiente (26-28°C). Le inoculazioni furono effettuate il 30/6/1959 e i primi sintomi furono osservati il 9/7/1959.

Anche in questo caso, i testimoni restarono sempre sani. Su Lino allevato in vaso, tuttavia, le macchie comparvero più tardi e il decorso della malattia fu più lento che non su Lino allevato in campo e prossimo alla fioritura. Questo comportamento era atteso, poiché è nota l'esistenza di un periodo di alta resistenza delle piante alle infezioni di *M. linorum*, tra lo stadio cotiledonare e quello di fioritura (Brentzel, 1926; Loughnane e McKay, 1946).

Le infezioni si manifestarono sulle foglie con piccole macchie di color verde-giallastro che rapidamente si espansero fino ad occupare gran parte della lamina, acquistando nello stesso tempo una colorazione bruna. In seguito le foglie colpite disseccarono completamente; per la maggior parte, esse non caddero, ma si accartocciarono sugli steli.

Le lesioni sui fusti furono dapprima molto piccole, presentandosi talvolta a guisa di sottili strisce allungate di color verde-giallastro occupanti una piccola parte della circonferenza dello stelo; in uno stadio più avanzato, esse si svilupparono fino a circondare gli steli stessi, e si estesero anche per vari centimetri lungo l'asse del fusto.

Le piante nello stadio finale della malattia apparvero completamente disseccate (Fig. 5). Su di esse si differenziò un gran numero di picnidi, dai quali si ottennero in coltura colonie del tutto identiche a quelle che avevano servito per l'infezione artificiale.

* * *

Il « Pasma » del Lino è stato osservato per la prima volta in Argentina da Spegazzini nel 1909 ed è ora presente in numerosi Paesi europei (Danimarca, Francia, Germania, Irlanda, Jugoslavia, Portogallo, Romania, Ungheria) ed extraeuropei (Australia, Brasile, Canada, Kenya, Marocco, Nuova Zelanda, Perù, S.U.A., Turchia, U.R.S.S., Uruguay).

Per quanto riguarda l'Italia, le attuali conoscenze sembrano limitate ai risultati dei sopralluoghi compiuti in alcune zone della Puglia.

In questa regione, la malattia sembra essere assai diffusa ed è presente sia nelle aree tipicamente linicole delle provincie di Taranto (Laterza) e di Bari (Altamura), sia in zone delle provincie di Bari, Brindisi e Taranto, ove la coltura del Lino è del tutto occasionale o, più spesso, limitata a minuscoli appezzamenti (Terlizzi, Casamassima,

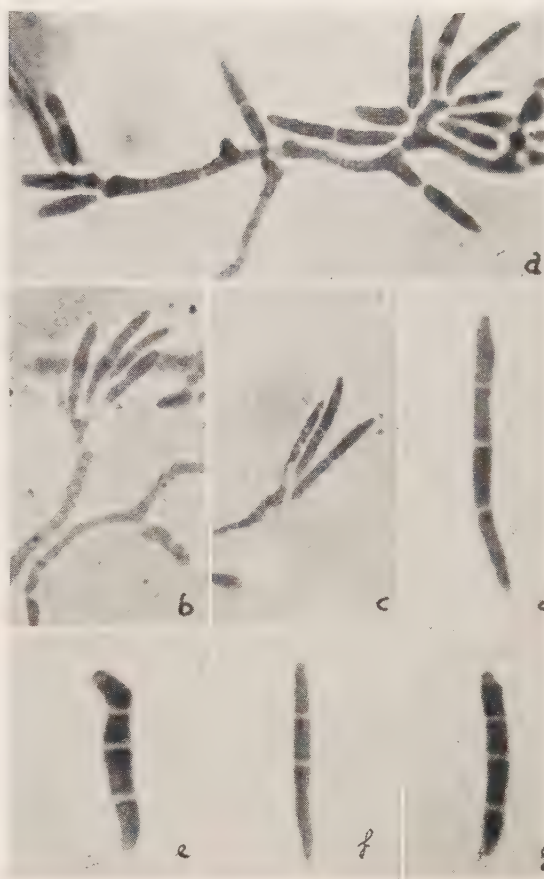


Fig. 4. - a, b, c, formazione di conidi liberi in coltura (x 1200 circa); d, e, f, g, picno-conidi in coltura (x 1500 circa).

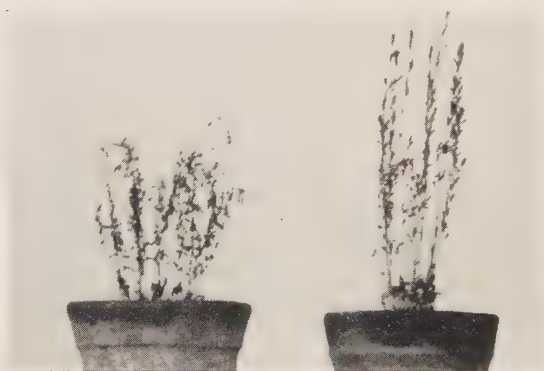


Fig. 5. - A sinistra piante di Lino infettate artificialmente. A destra testimone. Infezione eseguita il 30-6-1959; fotografia eseguita il 20-7-1959.

Mottola, Castellaneta, Ostuni). Queste piccole colture, difatti, benché siano per lo più utilizzate per il seme, vengono anche impiantate allo scopo di fornire agli agricoltori materiale per fare legacci per i vigneti.

All'interno della regione, gli scambi di seme tra zona e zona avrebbero permesso una rapida diffusione del patogeno. Nella azienda menzionata all'inizio di questa nota,

difatti, il Lino non era stato mai coltivato e il seme di questa prima coltura era stato importato da Laterza, località ove la malattia era sicuramente presente.

Se, d'altra parte, la malattia è passata inosservata fino ad oggi, ciò potrebbe essere imputabile, con ogni probabilità, agli scarsi danni che essa ha per ora provocato anche nelle zone ove il Lino è largamente coltivato. A ciò possono aver contribuito sia le condizioni climatiche esistenti in quelle aree, forse non troppo favorevoli al fungo — meno che in annate, come quella scorsa, eccezionalmente piovose —, sia il fatto che in esse aree prevalgono lini da seme, sui quali, se l'infezione non è gravissima, i danni si manifestano con minore evidenza; tanto più che, se le infezioni occorrono — come di solito avviene — poco prima della maturazione, le piante colpite possono essere scambiate con piante maturate precocemente.

Sui lini da seme, difatti, il danno consiste soprattutto in una riduzione del prodotto, nella diminuzione del contenuto in olio dei semi, nell'abbassamento del numero di iodio dell'olio (Sackston e Carson, 1951).

Le perdite di seme asservate l'anno passato nelle varie colture sono sembrate, per il vero, ovunque esigue, meno che nel caso di Ostuni ove la produzione era fortemente compromessa. Non si sono compiuti rilievi precisi al riguardo, ma si ritiene che la percentuale di prodotto perduto sia inferiore, non solo a quel 28-51 % trovato in Argentina in annate di forte « Pasma » (Godoy e Bruni, 1949), ma anche a quel 10 % riscontrato negli anni passati in Francia (Plonka e Anselme, 1956).

Riassunto

Viene segnalata la presenza in Italia di *Mycosphaerella linorum* (Wr.) Garcia-Rada, agente del « Pasma » del Lino.

Si descrivono brevemente i sintomi della malattia osservati in campo, la morfologia ed il comportamento del fungo in coltura.

Si espongono i risultati delle prove di inoculazione effettuate e su piante di Lino in pieno campo e su piante allevate in vaso con sospensioni di conidi prodotti sia in natura che in coltura.

Si accenna alla diffusione del parassita in Puglia e all'importanza dei danni che produce.

Summary

THE « PASMO » DISEASE OF FLAX (*LINUM USITATISSIMUM* L.) IN ITALY.

Mycosphaerella linorum (Wr.) Garcia-Rada is reported in Italy.

The symptoms of the disease, the morphology and the behaviour of the fungus in culture, are briefly described.

The results of the inoculation tests on Flax plants growing in the field, and on plants growing in pots are summarized. The inoculation

tests were made with a suspension of spores produced in nature and in culture.

General information is given about the diffusion and the economic importance of the pathogen in Apulia.

Résumé

LE « PASMO » DU LIN (*LINUM USITATISSIMUM* L.) EN ITALIE.

Mycosphaerella linorum (Wr.) Garcia-Rada, agent du « Pasma » du Lin a été trouvée en Italie.

On décrit brièvement les symptômes de la maladie, la morphologie et quelques aspects du champignon en culture.

Les résultats des essais de inoculation sur des plantes de Lin cultivées en champ et sur des plantes élevées en vase, au moyen d'une suspension de conidies produits en nature ou en culture, ont été positifs.

On donne quelques renseignements sur la diffusion du champignon et sur son importance économique en Pouille.

LAVORI CITATI

- ANSELME C., 1960. Recherches sur le Pasma des Lins à huile. *Ann. Epiphyt.*, 11, 201-215.
- BRENTZEL W. E., 1926. The Pasma disease of Flax. *J. agr. Res.*, 32, 25-37.
- BUBAK F., 1915. Dritter Beitrag zur Pilzflora Montenegros. *Bot. Közl.*
- GARASSINI L. A., 1935. El « Pasma » del Lino, *Phlyctaena? linicola*. Speg. Ensayo a campo de resistencia varietal y estudio morfológico y fisiológico del parásito. *Rev. Fac. Agron. La Plata*, ser. 3, 20, 170-261 (in: *Rev. appl. Mycol.*, 15, 1936, 441).
- GARASSINI L. A., 1938. Ubicación generica del micromicete que produce el « Pasma » del Lino. *Rev. Fac. Agron. La Plata*, ser. 3, 23, 95-107 (in: *Rev. appl. Mycol.*, 18, 1939, 595-596).
- GODOY E. F. e O. BRUNI, 1949. Memoria da Reunion de Lino, Min. Agr. y Gan. de la Nacion, 32-35.
- LOUGHNANE J. B. e R. MACKAY, 1946. Observations on the pasmo disease of Flax and on the causal fungus *Sphaerella linorum* Wollenweber. *Sci. Proc. R. Dublin Soc. n.s.*, 10, 89-98, (in: *Rev. appl. Mycol.*, 25, 1946, 449).
- MAERZ A. e R. A. PAUL, 1950. Dictionary of Color, 2nd Ed., McGraw-Hill Book Co., New York, 210 pp.
- NAUMOV N. A., 1926. Novelties of the local mycoflora. *Mycology, Leningrad*, 1, 16 pp. (in: *Rev. appl. Mycol.*, 5, 1926, 610).
- PLONKA F. e E. ANSELME, 1956. Le variétés de Lin et leurs principales maladies cryptogamiques, *Inst. Nat. Rech. Agr.*, Paris, 179 pp.
- ROST H., 1937. Die Pasma-Krankheit des Leins in Europa. Erreger: *Septoria linicola* (Speg.) Garassini. *Angew. Bot.*, 19, 163-171 (in: *Rev. appl. Mycol.*, 16, 1937, 676).
- ROTHERS B. V., 1927. A note on two new fungi parasitic on Flax. *La defense des Plantes, Leningrad*, 4, 535 (in: *Rev. appl. Mycol.*, 7, 1928, 446).
- SACKSTON W. E. e R. B. CARSON, 1951. Effect of pasmo disease of Flax on the yield and quality of linseed oil. *Canad. J. Bot.*, 29, 339-351.
- SPGAZZINI C., 1911. Mycetes argentinienses. *An. Mus. nac. B. Aires*, 13, 389-390.
- WOLLENWEBER H. W., 1938. *Sphaerella linicola* n. sp. die Ursache der Amerikanischen Leinpest (Pasma, oder « Septoria ». Krankheit) *Rev. Bot. Inst., Miguel Lillo*, 2, 483-494.

The identification of Cucumber mosaic virus from different hosts in Israel

by F. E. NITZANY and R. E. WILKINSON (*)

(Publication n. 336-E, 1960 series)

C.D.U. 632.38 *Marmor cucumeris* (569.4)

Introduction

Mosaic type diseases are commonly observed on many cultivated plants in Israel. Among vegetable crops, Cucumbers (Fig. 1), Muskmelons, Marrows, Tomatoes and Peppers (Fig. 2, 3) are severely affected by these diseases; mosaics were observed on Eggplants in sporadic cases only. Among fodder crops mosaics were often recorded on Fodder beet (Fig. 4). The perennial ornamental Periwinkle, *Vinca rosea* L., was commonly found to be severely chlorotic in winter, but symptoms disappeared during the warmer part of the year. From these different species a virus, which appeared to be identical with Cucumber mosaic virus, was recovered.

Materials and Methods

Test plants were grown in insect-proof greenhouses and regularly treated with insecticides. Inoculum was prepared by grinding, in a sterile mortar, leaves of infected plants with the addition of a small amount of water. Inoculations were made by mechanical methods, using 400 mesh carborundum as an abrasive.

Cultures of the virus were kept in *Nicotiana glutinosa* L. and, alternatively, in *Cucumis sativus* L., Cucumber, cv « Beit Alfa ». *N. glutinosa* had been found to be immune from other viruses affecting Cucurbits in Israel (Cohen and Nitzany, 1960), and Cucumber was not susceptible to other viruses affecting some of the crops mentioned above (Nitzany and Tanne, 1960; Nitzany and Wilkinson, 1960). Accordingly, alternative pas-

sages between these two plants ensured elimination of other viruses, if present.

Tests to establish the characteristics of the virus, as described below, were carried out on isolates from Cucumbers, Peppers, Fodder beets and Periwinkle.

Virus Characteristics

Transmission: The virus is easily transmitted by the usual mechanical means. *Aphis gossypii* Glov. also transmitted the virus.

In the following tests, made to establish the physical characteristics of the virus, the inoculum obtained after each treatment was tested on groups of 20 « Beit Alfa » cucumber seedlings in the cotyledonal stage.

Thermal inactivation point (T.I.P.): Systemically infected leaves of « Beit Alfa » cucumbers or of *N. glutinosa* were used as source of inoculum, and their sap was diluted in one or two volumes of water. The T.I.P. of the different isolates varied between 60° and 65°C; one of the isolates from Cucumber had a T.I.P. between 68° and 70°C.

Thermal inactivation *in vivo* was not attempted, but when temperatures in the greenhouse remained for several hours above 30°C, the results of inoculations with this virus were unreliable. Therefore, work with these isolates had to be carried out during the cooler months of the year.

(*) Respectively, Plant Pathologist, Virus Research Unit, Agricultural Research Station, Beit-Dagan, and Plant Virologist on leave from Cornell University on the Israel Project of the Research Foundation of State University of New York.

Dilution end point (D.E.P.): As source of inoculum we used either the first two true leaves formed on « Beit Alfa » cucumber seedlings, after inoculation in the cotyledonal stage, or the cotyledons themselves, 10 to 14 days after they had been inoculated. Positive results were obtained with most isolates at a dilution of 10^{-5} . The D.E.P. of some of the isolates was in the limits of 10^{-3} to 10^{-4} . In one case only, infection resulted from sap diluted to 10^{-6} .

Longevity in desiccated leaves: Cotyledons of « Beit Alfa » cucumbers, 10 days after they had been inoculated, were dried over calcium chloride, and inoculum was prepared by macerating 2 of these cotyledons in cc 2 of water. Highly infective virus was still recovered after 40 days of storage. After this period the tests were discontinued.

Longevity *in vitro*: Sap prepared from cotyledons of « Beit Alfa » cucumber, 8 to 10 days after they had been inoculated, was diluted in 2 or 5 volumes of water and stored at room temperature. Generally the sap was still infective after 18 days of storage, but not after 22. In one cucumber isolate the sap retained infectivity for 30 days.

Host range: Inoculations on each test plant, from each isolate, were made on groups of at least 4 plants, but in many cases groups of up to 20 plants were used. The reaction of each test plant was tested several times; some non-inoculated plants were kept as controls. Cucurbits were inoculated during the cotyledon stage, whereas plants belonging to most other families were inoculated during the 2 to 4 leaf stage. Whenever infection symptoms on inoculated plants were not evident, back inoculations to confirm lack of



Fig. 1. - Cucumber mosaic virus symptoms on Cucumber.



Fig. 2. - Cucumber mosaic virus symptoms on Pepper leaves.

systemic spread of the virus were made on « Beit Alfa » cucumber or on *Chenopodium amaranticolor* Coste et Reyn. In a few cases *Gomphrena globosa* L. was also used.

A) Plants susceptible to the virus and which showed both local and systemic reactions, belong to the following varieties and species: AMARANTACEAE - *Gomphrena globosa* L., Globe amaranth. CHENOPODIACEAE - *Beta vulgaris* L., Red beet, cv « Egyptian »; Fodder beet, cv « Sludstrop » and « Lord Warden »; Sugar beet, cv « Kuhn R. » and « Zwanessee III »; Mangold; *Spinacia oleracea* L., Spinach, local cv. CUCURBITACEAE - *Cucumis sativus* L., Cucumber, cv « Beit Alfa », « Ben Shemen » and « Puerto Rico »; *Cucumis melo* L., Muskmelon, cv « Hales Best », « Dvash Haogen », « Ananas Yokneam », « Tal Gilboa » and « Local Hazera »; *Cucurbita maxima* Duch., Pumpkin, cv « Bakbukit »; *Cucurbita pepo* L., Vegetable marrows, cv « Sihi Lavan ». LABIATAE - *Majorana* sp., Sweet Marjoram. LEGUMINOSAE - *Trifolium alexandrinum* L., Egyptian clover, cv « Faheli ». SOLANACEAE - *Datura stramonium* L., Thorn apple; *Capsicum annuum* L., Pepper, cv « Tabasco ».

Systemic spread of the virus on beets was erratic, and often symptoms were not observed on the new growth. When systemic symptoms were not evident, back inoculation tests to establish if the virus was masked were unreliable, as some difficulty was even experienced in recovering the virus from

beets which had pronounced systemic symptoms. Many isolates caused local lesions only on Thorn apple, without systemic spread of the virus.

B) The following species were systemically susceptible to the virus, but either a local reaction on the inoculated leaves was not observed, or appeared only with some isolates, or only during some seasons of the year. APOCINACEAE - *Vinca rosea* L., Periwinkle. CUCURBITACEAE - *Cucumis sativus* L., Cucumber, cv « York State Pickling », « Ohio MR 17 » and « Jihai ». COMPOSITAE - *Carthamus tinctorius* L., Safflower, local selections G and 26; *Zinnia elegans* L., Zinnia, cv « Will Rogers », « Giant of California », « Lilliput » and « Scarlet »; *Lactuca sativa* L., Lettuce, cv « Rosh Saav ». RANUNCULACEAE - *Delphinium* sp. Larkspur. SOLANACEAE - *Capsicum annuum* L., Pepper, cv « California Wonder », « Yellow Naharia », « Puerto Rico Wonder », « Puerto Rico Perfection », « Gamba », « Local Paprika », « Local Hot Pepper »; *Lycopersicon esculentum* Mill., Tomato, cv « Marmande » and « Lanai »; *Solanum melongena* L., Eggplant, cv « Black Beauty »; *Solanum capsicastrum* Link.; *Datura metel* L.; *Datura meteloides* D.C.; *Physalis floridana* Rydb., Ground cherry; *Physalis peruviana* L., Cape gooseberry; *Nicotiana tabacum* L., Tobacco, cv « Turkish Samsoun » and « N.N. »; *Nicotiana glutinosa* L.; *Nicotiana repanda* Wild.; *Nicotiana rustica* L. UMBELLIFERAE - *Apium graveolens* L., Celery.

Among these systemically susceptible plants, « York State Pickling », « Ohio MR 17 » and « Jihai » cucumbers showed very mild symptoms, or the virus was masked. Some isolates were encountered which caused necrotic local lesions on Pepper and chlorotic local rings on Tobacco and on other *Nicotiana* species, but we were unable to obtain strains causing these reactions consistently. A strain isolated from Pepper and producing a bright yellow mottle on Tobacco,



Fig. 3. - Cucumber mosaic virus symptoms on Pepper fruit.



Fig. 4. - Cucumber mosaic virus symptoms on Fodder beet leaves.

caused necrotic local lesions on Zinnia. A similar strain was also once isolated from Tomato. After repeated transfers from these necrotic local lesions, a strain was obtained which consistently produced this reaction on Zinnia.

C) Some species were found to react to inoculation with this virus with formation of local lesions only:

CHENOPODIACEAE - *Chenopodium amaranticolor* Coste et Reyn.; *Chenopodium murale* L. CUCURBITACEAE - *Citrullus vulgaris* Schrad., Watermelon, cv « Florida », « Mallali », « Alfa » and Fodder watermelon. LEGUMINOSAE - *Vigna sinensis* (L.) Savi., Cowpea, cv « Cream 14 ».

Watermelon appeared to be highly resistant to systemic spread of the virus; of some hundreds of inoculated seedlings, the virus could be recovered from the new growth of only a few of them.

D) *Phaseolus vulgaris* L., Bean, cv « Brittle Wax » and « Bountiful », and *Medicago sativa* L., Alfalfa, cv « Peruvian » were found to be immune. *Solanum villosum* (L.) Lam. appeared to be highly resistant to this virus, and in the routine greenhouse work was satisfactorily used for the elimination of this virus from complexes with other viruses affecting solanaceous crops in Israel (Nitzany and Wilkinson, 1960).

Identity of the virus

Disease symptoms observed on the different test plants and the host range of this virus correspond generally with those described for Cucumber mosaic virus (Price, 1935; Severin, 1948; Severin and Freilag, 1948; Smith, 1957; Wellman, 1935). The T.I.P.

established for our isolates is within the limits of variability known for this virus (Ainsworth, 1935; Doolittle, 1920). Chamberlain (1954) and Smith (1957) give, for Cucumber mosaic virus, a D.E.P. of 10^{-4} , while Pound and Walker (1948) reported a 10^{-5} D.E.P. In general our isolates were within the limits mentioned by these authors, with the exception of one case in which the D.E.P. was found to be 10^{-6} . For longevity *in vitro* Fulton (1950) reported a period of 10 days, while Chamberlain (1954) and Smith (1957) mention a period of 4 days. In our case infective virus was recovered even after 30 days. Smith (1957) states that the virus is destroyed by drying, while McKinney (1945) stated that infective virus could be recovered after 153 days from Cucumber leaves dried over calcium chloride. In our tests highly infective virus was still present after at least 40 days of drying over calcium chloride.

Several other viruses known to infect cucurbits (Anderson, 1954; Grogan *et al.*, 1959; Lindberg *et al.*, 1956; Rader *et al.*, 1947; Vasudeva, 1943) differ from our isolates in that they have a much more limited host range than that of Cucumber mosaic virus.

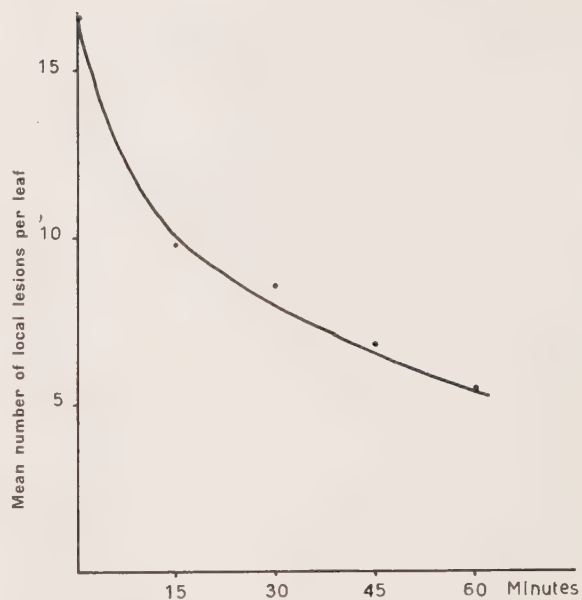


Fig. 5. - Decrease in number of lesions formed on Zinnia leaves by the local lesion strain of C. M.V., with ageing *in vitro*.

Tobacco and Tomato ringspot viruses may also be discarded, since symptoms of these viruses differed from those observed on Cu-



Fig. 6. - Results of cross-protection test between strains of Cucumber mosaic virus. Upper leaves: protected; lower leaves: control.

cucurbits and solanaceous plants (Smith, 1957). Alfalfa mosaic virus also does not appear to be involved as local lesions were never observed on Beans, and systemic spread was never observed on *Chenopodium amaranticolor* (Hollings, 1957).

Cross-protection tests

The strain which had been found to cause formation of necrotic local lesions on Zinnias was used to carry out cross-protection tests.

This strain seemed to lose its ability to produce local lesions on Zinnia, with ageing of the inoculum *in vitro*. To confirm this observation a comparison was made, under quantitative test conditions, using sap after 0, 15, 30, 45 and 60 minutes of storage. One leaf from each of 25 pairs of Zinnia leaves was inoculated, while the 25 opposing leaves were inoculated after a 15 minutes interval. Results appear in Fig. 5. The reduction observed during the first 15 minutes of storage was found to be statistically significant, while the reductions observed between the subsequent intervals were not significant. The rapid decrease in local lesions formed during the first 15 minutes of storage of the sap had to be taken into account when cross-protection test were carried out.

The reaction of Zinnia to inoculation with this local lesion strain was similar to that reported by Price (1935). A reliable reaction was observed on the young wholly developed pairs of leaves, while local lesion formation on older leaves was erratic. In addition, it seemed that movement of Cucumber mosaic virus in the inoculated leaves was a slow process. If a leaf was inoculated with a supposedly protecting strain, no protection was obtained in the first days after inoculation. By the time the protecting strain might have invaded the whole leaf, the leaf had already reached the stage when local lesion formation by the challenge strain was erratic. Consequently, cross-protection test using half leaf or paired leaves techniques could not be carried out. Tests were carried out on plants in which the protecting strain had been allowed to move systemically, and uninfected plants were used as control. Each of these two groups consisted of 8 plants, with about 32 reacting leaves per group. Inoculations with the challenge strain were carried out inoculating a leaf infected with a suspected Cucumber mosaic virus isolate, and a control non-infected leaf alternatively. Using this technique we obtained from 10 to 20 local lesions per control leaf; isolated local lesions were rarely observed on leaves of plants which had been previously

inoculated with isolates from the different hosts mentioned earlier (Fig. 6). A strain which had been sent to Cambridge University for identification, was also found to give full protection against the local lesion strain.

Survey and identification from additional hosts

As already mentioned, extensive tests were carried out on isolates from Cucumbers, Peppers, Fodder beets and Periwinkle. Tests on the numerous samples brought from the field from these four hosts, and from Marrows, Muskmelons, Tomatoes and Eggplants, were made in the course of our routine survey work with help of a limited host range. This included: *Chenopodium amaranticolor*, *Cucumis sativus* cv « Beit Alfa », *Datura stramonium*, *Gomphrena globosa*, *Nicotiana glutinosa*, *Physalis floridana*, *Solanum villosum*, *Zinnia elegans* cv « Will Rogers ». Reaction of these plants indicating presence of Cucumber mosaic virus was often confirmed by cross-protection tests on Zinnia.

This disease causes severe losses in all parts of the country in spring and autumn, but seems to be of minor importance in summer. In winter the hosts of major economic importance — Cucurbits, Peppers and Tomatoes — are grown mainly in the warmer Jordan Valley. There the disease is found in winter, and during this season severely affected fodder beet fields have also been encountered, particularly in the upper Galilee and in the coastal region. From our host range tests, it appears that this virus represents a potential danger to many additional plants cultivated in Israel.

Acknowledgment

Thanks are due to Dr. I. Harpaz, at Molteno Institute, Cambridge University, who confirmed our identification of Cucumber mosaic virus for one of our isolates from Cucumber.

Summary

Cucumber mosaic virus was identified in Israel from Cucumbers, Marrows, Muskmelons, Fodder beets, Periwinkle, Tomatoes, Peppers and Eggplants. Test of thermal inactivation, dilution end point, longevity *in vitro* and in dried leaves, and a host range of about 70 plants, confirmed the identity of the virus in isolates from Cucumber, Fodder beet, Periwinkle and Pepper. In the survey work, identity of the virus from a variety of hosts and from different season and regions in Israel was confirmed by a more limited host range. A strain was isolated which caused the formation of necrotic local lesions in Zinnia. Full protection against this strain was given by the different isolates.

Résumé

L'IDENTIFICATION DU VIRUS DE LA MOSAÏQUE DE LA CONCOMBRE SUR DIVERS HÔTES EN ISRAËL

Le virus de la mosaïque de la Concombre a été identifié en Israël attaquant les Concombres, Courgettes, Melons, Betteraves fourragères, Pervenches, Tomates, Poivrons et Aubergines. Des expériences ont été entreprises en ce qui concerne l'inactivation thermique, point de dilution, longévité *in vitro* et dans les feuilles sèches, et la susceptibilité de 70 plantes. Ces expériences ont confirmé l'identité du virus isolé par nous des Concombres, Betteraves fourragères, Pervenches et Poivrons. L'identité du virus, lors des nos recherches sur les autres plantes et dans les différentes saisons et régions d'Israël a été confirmé inoculant un nombre limité des plantes expérimentelles.

Une souche du virus a été isolés causant des lésions localisées nécrotiques dans la plante ornementale Zinnia. Cette plante a été protégée contre cette souche du virus, lorsqu'elle avait été inoculée par d'autres souches du virus.

LITERATURE CITED

- AINSWORTH G. C., 1935. Mosaic diseases of the cucumber. *Ann. appl. Biol.*, 22, 55-67.
- ANDERSON C. W., 1954. Two watermelon mosaic virus strains from central Florida. *Phytopathology*, 44, 198-202.
- CHAMBERLAIN E. E., 1954. Plant Virus Diseases in New Zealand. *Bull. N.Z. Dept. sci. industr. Res.* n. 108, 255 pp.
- COHEN S. and F. E. NITZANY, 1960. A whitefly transmitted virus of Cucurbits in Israel. *Phytopath. medit.*, 1, 44-46.
- DOOLITTLE S. P., 1920. The Mosaic Diseases of Cucurbits, *Bull. U. S. Dep. Agr.*, n. 879, 69 pp.
- FULTON J. P., 1950. Studies on strains of cucumber virus I from spinach. *Phytopathology*, 40, 729-736.
- GROGAN R. G., D. H. HALL and K. A. KIMBLE, 1959. Cucurbit mosaic viruses in California. *Phytopathology*, 49, 366-376.
- HOLLINGS M., 1957. Reaction of some additional plant viruses on *Chenopodium amaranticolor*. *Plant Path.*, 6, 133-135.
- LINDBERG G. D., D. H. HALL and J. C. WALKER, 1956. A study of melon and squash mosaic viruses. *Phytopathology*, 46, 489-495.
- McKINNEY H. H., 1945. Virus of cucumber mosaic withstands desiccation in leaf tissue. *Phytopathology*, 35, 488.
- NITZANY F. E. and EDNA TANNE, 1960. Preliminary Greenhouse Tests on Pepper Varieties for Virus Disease Resistance. *Pre. Rep. agric. Res. Sta. Rehovoth*, n. 271.
- NITZANY F. E. and R. E. WILKINSON, 1960. The identification of some viruses affecting tomatoes in Israel. *Ktavim*, 10, 91-96.
- POUND G. S. and J. C. WALKER, 1948. Strains of cucumber mosaic virus pathogenic on crucifers. *J. agric. Res.*, 77, 1-2.
- PRICE W. C., 1935. Acquired immunity from cucumber mosaic in zinnia. *Phytopathology*, 25, 776-789.
- PRICE W. C., 1940. Comparative host ranges of six plant viruses. *Amer. J. Bot.*, 27, 530-541.
- RADER W. E., H. F. FITZPATRICK and E. M. HILDEBRAND, 1947. A seed-borne virus of muskmelon. *Phytopathology*, 37, 809-816.
- SEVERIN H. H. P., 1948. Symptoms of additional cucumber mosaic viruses on sugar beets. *Hilgardia*, 18, 531-538.
- SEVERIN H. H. P. and L. H. FREITAG, 1948. Outbreak of western cucumber mosaic on sugar beets. *Hilgardia*, 18, 523-530.
- SMITH K. M., 1957. A Textbook of Plant Virus Diseases. 2nd Edition. Little, Brown and Co., Boston, 652 pp.
- VASUDEVA R. S. 1943. A mosaic disease of bottle gourd. *Indian J. agric. Sci.* 13, 182-191.
- WELLMAN F. L., 1935 The host range of southern celery mosaic virus. *Phytopathology*, 25, 376-404.

Attività pectolitica e cellulosolitica di alcuni isolamenti di *Cycloconium oleaginum* Cast. (*)

di ALBERTO MATTA e CARLO RUBIOLA

C. D. U. 577.154.33 + 35 : 582.288.43
Cycloconium oleaginum

Vari Autori (cfr. in proposito ad esempio le rassegne di Brown, 1955 e di Wood, 1955, 1959, ed i più recenti lavori di Husain e Diamond, 1960, di Heitefuss *et al.*, 1960 e di Graniti, 1960) hanno attribuito notevole importanza alle attività pectolitiche e cellulosolitiche di alcuni funghi fitopatogeni per spiegarne i processi infettivi e patogeni.

Nel presente lavoro dette attività sono state indagate su un numero abbastanza elevato di isolamenti di *Cycloconium oleaginum* Cast. ⁽¹⁾, il ben noto agente della malattia dell'olivo, indicata in Italia per lo più sotto il nome di « occhio di pavone », al fine di appurare se nei loro riguardi essi presentavano o meno differenze sufficienti a riunirli in gruppi affini, analogamente a quanto era apparso nelle ricerche di Castellani e Matta (1960) rispetto alla loro capacità di utilizzare vari zuccheri e di sintetizzare alcune vitamine idrosolubili.

Attività pectolitica

Secondo le attuali conoscenze (cfr. Brown loc. cit.) ai processi di degradazione biologica delle sostanze pectiche partecipano più enzimi, distinti in: 1) pectin-metil-esterasi, che catalizza la demetilazione degli acidi pectinici trasformandoli in acidi pectici; 2) pectin-poligatturonasi, che idrolizza gli acidi pectici in acidi poligatturonici liberi ⁽²⁾; 3) pectin-depolimerasi, che determina l'idrolisi parziale degli acidi pectici senza dar luogo alla formazione di acidi gatturonici liberi.

Nella presente ricerca è stata indagata l'attività pectolitica totale di 19 isolamenti di *C. oleaginum* e di 14 anche l'attività pectin-metil-esterasica.

Nella Tabella I sono riportate le sigle

con le quali gli isolamenti vengono indicati nel testo ⁽³⁾, le provenienze delle cultivar delle foglie di olivo dalle quali essi furono ottenuti, le date della raccolta ed i rispettivi raccoglitori.

Ogni isolamento è stato coltivato in 5 repliche in matraccini di Erlenmeyer contenenti cm³ 25 del substrato impiegato nel ricordato lavoro di Castellani e Matta — cui si rimanda per la composizione dello stesso e la tecnica di inoculazione — nel quale però il carbonio era fornito sotto forma di pectina (1 %) e di glucosio (0,5 %) combinazione che da prove orientative condotte con alcuni isolamenti era apparsa più idonea del solo glucosio o della sola pectina per stimolare la produzione di enzimi pectolitici.

Dopo un periodo di incubazione di 55 giorni a 18-20°C le singole colture venivano filtrate attraverso tela e coi filtrati si procedeva ai saggi relativi.

L'attività pectolitica totale dei singoli isolamenti è stata valutata in funzione della perdita di viscosità indotta dai loro filtrati

(*) Lavoro eseguito con un contributo del Consiglio Nazionale delle Ricerche.

⁽¹⁾ Nella presente nota il fungillo viene ancora indicato sotto questo binomio col quale è universalmente conosciuto, quantunque secondo Hughes (1953) dovrebbe essere riportato al genere *Spilocoea*.

⁽²⁾ Per i diversi tipi di poligatturonasi conosciuti si veda il lavoro di Deuel e Stutz (1958).

⁽³⁾ Gli isolamenti Li/1, Li/2, Ve/1, Ve/2, Ve/3, Ve/4, Ab/1, Cm/3, Pu/1, Pu/4, Pu/5, Ca/1, Sa/1, Si/1, Si/2, Si/3 erano già stati saggiati da Castellani e Matta (loc. cit.) per quanto concerneva la loro capacità di utilizzare vari zuccheri e di sintetizzare alcune vitamine idrosolubili, ed in base a dette caratteristiche era stato possibile raggrupparli in 10 razze colturali ben definite.

in una soluzione pectica preparata aggiungendo ed omogeneizzando gr 30 di pectina⁽⁴⁾ per litro di una soluzione tampone (acido acetico-acetato di sodio) a pH 4,5, addizionata di alcune gocce di toluene per mantenere le condizioni di asepsi.

La soluzione pectica è stata distribuita in boccette di vetro, ermeticamente chiuse in modo da evitare la evaporazione del toluene, in ragione di cm³ 25 per ciascuna. In una serie di boccette sono stati quindi aggiunti cm³ 5 del filtrato di cui si voleva saggiare l'attività pectolitica. In altra serie, che serviva come controllo, al fine di tener conto della autolisi spontanea della pectina sono stati aggiunti gli stessi quantitativi dei rispettivi filtrati previamente inattivati con riscaldamento per 10' a bagnomaria a 90°C.

Poiché da saggi preliminari, condotti su alcuni isolamenti, era apparso che l'attività pectolitica dei liquidi culturali di *C. oleaginum* relativamente a quella di altri funghi

forti produttori di enzimi pectolitici, quali ad esempio *Sclerotium rolfsii*, era molto modesta, i saggi viscosimetrici sono stati effettuati dopo 24, 72, 120 e 240 ore dall'immissione dei filtrati. Per tutta la durata di detti periodi le soluzioni pectiche addizionate dei filtrati sono state mantenute alla temperatura di 30°C.

Le variazioni di viscosità sono state determinate in funzione del tempo di caduta delle soluzioni pectiche di cui sopra attraverso ad una pipetta tarata, opportunamente montata e con apertura tale da consentire la caduta di un eguale volume di acqua distillata in 5". Non si è ricorso a viscosimetri classici muniti di coefficienti di correzione essendo sufficienti ai fini delle nostre ricerche valori tra di loro compara-

(4)Prodotto fornito dalla Ditta Schuchardt di Monaco.

TABELLA I. - Provenienze degli isolamenti di *Cycloconium oleaginum* dei quali è stata saggiata l'attività pecto- e cellulosolitica.

Località	Cultivar	Data di raccolta	Raccoglitore	Sigla
LIGURIA:				
Pietra Ligure (Savona) . . .	« Taggiasca »	III-1957	E. Castellani	Li/1
Imperia	« Taggiasca »	III-1957	R. Carta	Li/2
Pieve di Teco (Imperia) . . .	« Taggiasca »	VI-1957	E. Castellani	Li/3
VENETO:				
Marzana Valpantena (Verona)	« Favarol »	IV-1956	D. Rui	Ve/1
Marzana Valpantena (Verona)	« Moraiolo »	IV-1956	D. Rui	Ve/2
Marzana Valpantena (Verona)	« Madonna dell'Impruneta »	IV-1956	D. Rui	Ve/3
Torri del Benaco (Verona) . .	(?)	IV-1956	D. Rui	Ve/4
LAZIO:				
Casal de' Pazzi (Roma) . . .	« Frantoio »	III-1956	O. Lovisolo	La/1
CAMPANIA:				
Oliveto Citra (Salerno) . . .	« Leccino »	IV-1956	M. Cristinzio	Cm/1
Valva (Salerno)	« Ulivona »	IV-1956	M. Cristinzio	Cm/3
PUGLIE:				
Squinzano (Lecce)	« Cellina di Nardò »	XII-1955	G. Scaramuzzi	Pu/1
Canosa (Bari)	« Oliva di Cerignola »	XII-1955	G. Scaramuzzi	Pu/4
Canosa (Bari)	« Coratina »	XII-1955	G. Scaramuzzi	Pu/5
CALABRIA:				
Sellia Marina (Catanzaro) . .	(?)	XII-1955	G. Scaramuzzi	Ca/1
SARDEGNA:				
Sassari	« Tondo sassarese »	XII-1955	U. Prota	Sa/1
SICILIA:				
Acireale (Catania)	« Moresca »	III-1956	A. Graniti	Si/1
Cibali (Catania)	« Nocellara Etnea »	III-1956	A. Graniti	Si/2
Bicocca (Catania)	« Nocellara Etnea »	VI-1956	A. Graniti	Si/3
GRECIA:				
Maronni (Attica)	(?)	IV-1956	V. Catsimbas	Gr/1

TABELLA II. - Attività pectolitica di alcuni isolamenti di *C. oleaginum*.

Isolamenti	Grado di sviluppo (a)	Tempi di caduta (in secondi) delle soluzioni pectiche con								Perdita percentuale di viscosità dopo ore				mg di metossile liberati da cm ³ 1 di filtrato
		filtrati inattivi dopo ore				filtrati attivi dopo ore				24	72	120	240	
		24	72	120	240	24	72	120	240					
Li/1	+	30	26	25	18	27	26	25	17	10	0	0	5	0
Li/2	++	30	26	25	18	29	26	25	15	3	0	0	16	0
Li/3	++	30	26	25	18	29	26	25	17	3	0	0	5	0
Ve/1	+	30	26	25	18	27	24	22	14	10	7	12	22	0,16
Ve/2	++	30	26	25	18	20	18	16	12	33	30	36	33	—
Ve/3	o	30	26	25	18	27	19	16	9	10	27	36	50	—
Ve/4	+	30	26	25	18	29	26	25	16	3	0	0	11	0,04
La/1	+	30	26	25	18	28	16	11	7	6	38	56	60	0,36
Cm/1	+	30	26	25	18	28	16	11	7	6	38	56	60	0,27
Cm/3	o	30	26	25	18	29	26	23	14	3	0	8	22	—
Pu/1	+	30	26	25	18	10	7	6	6	66	73	76	64	0,15
Pu/4	+	30	26	25	18	28	26	25	16	6	0	0	11	—
Pu/5	o	30	26	25	18	28	26	22	14	6	0	12	22	0
Ca/1	+	30	26	25	18	17	11	9	7	43	57	64	60	0,22
Sa/1	+	30	26	25	18	29	20	15	9	3	23	40	50	0,25
Si/1	+	30	26	25	18	25	24	23	17	16	7	8	5	0
Si/2	+	30	26	25	18	28	26	23	15	6	0	8	16	0
Si/3	+	30	26	25	18	10	7	6	6	66	73	76	64	—
Gr/1	++	30	26	25	18	26	19	15	10	13	27	40	44	0,14

bili, ottenuti in condizioni costantemente uniformi.

Le determinazioni sono state fatte alla temperatura di 20°C. Ogni determinazione veniva ripetuta 3 volte e dei tre tempi misurati, per lo più identici o con scarti di pochi decimi di secondo, veniva effettuata la media aritmetica.

L'attività pectin-metil-esterasica è stata valutata secondo il metodo adottato da Winstead e Walker (1954), basato sul dosaggio

indiretto per titolazione dei gruppi carbossilici residui dei gruppi metilici rimossi dalla molecola della pectina sotto l'azione dell'enzima.

Nella Tabella II per i singoli isolamenti si riportano i valori medi relativi a:

- grado di sviluppo;
- tempi di caduta dopo i diversi intervalli della soluzione pectica con filtrato inattivato;
- *id. id.* con filtrato attivo;

TABELLA III. - Attività cellulolitica di alcuni isolamenti di *C. oleaginum*.

Isolamenti	Grado di sviluppo (a)	Tempi di caduta (in secondi) delle soluzioni di metilcellulosa con filtrati						Perdita percentuale di viscosità			
		inattivati	a t t t i v i					a 10'	a 20'	a 30'	a 60'
			a 10'	a 20'	a 30'	a 60'					
Li/1	o	60	56	55	52	51		7	8	13	15
Li/2	+	62	60	58	56	48		3	6	9	22
Li/3	++	62	60	58	51	49		3	6	17	21
Ve/1	o	60	55	54	53	53		8	10	11	11
Ve/2	++	60	54	50	50	48		10	16	16	20
Ve/3	++	63	58	51	49	48		8	19	22	24
Ve/4	+	61	57	54	52	52		6	11	15	15
La/1	+	60	50	48	46	45		16	20	23	25
Cm/1	++	60	49	46	45	45		18	23	25	25
Cm/3	++	60	53	52	49	46		12	13	18	23
Pu/1	+	62	55	53	49	45		11	14	21	27
Pu/4	+	60	55	53	50	44		8	11	16	27
Pu/5	+	62	58	54	51	47		6	13	17	24
Ca/1	+	62	60	57	56	48		3	8	9	22
Sa/1	+	60	54	51	50	49		10	15	16	18
Si/1	++	60	53	49	48	45		12	18	20	25
Si/2	o	60	56	50	48	47		7	16	20	22
Si/3	o	60	58	53	48	45		3	11	20	25
Gr/1	+	60	54	52	50	48		10	13	16	20
Ph/1	o	62	58	58	53	53		6	6	14	14
Qu/1	+	60	56	49	49	48		7	18	18	20

(a) o = scarso; + = mediocre; ++ = abbondante.

- perdita di viscosità determinata dai filtrati attivi, espressa come percentuale di quella riscontrata nelle soluzioni pectiche addizionate dei rispettivi filtrati inattivati, calcolata in base alla formula

$$\frac{x - y}{x} \cdot 100,$$

dove x rappresenta il tempo di caduta delle soluzioni con filtrati inattivati e y quello delle soluzioni con filtrati attivi;

- mg di metossile liberati ad opera dello enzima contenuto in cm^3 1 di filtrato colturale da gr 1,125 di pectina.

Dai dati della tabella è possibile rilevare:

1) Non esistono evidenti correlazioni tra il grado di sviluppo e l'attività pectolitica dei singoli isolamenti.

2) In tutte le soluzioni di confronto addizionate di liquidi colturali inattivati si nota una forte diminuzione della viscosità nel tempo che sembra dovuta ad autolisi spontanea della pectina, in quanto diminuzioni del tutto analoghe si sono verificate anche in soluzioni pectiche preparate nelle stesse condizioni nelle quali, invece di filtrati inattivati, erano stati aggiunti uguali quantitativi di acqua distillata.

3) Le perdite di viscosità determinate entro 24 ore anche dagli isolamenti Pu/1, Ca/1, Si/2, sotto questo aspetto più attivi, sono sempre state relativamente modeste se confrontate con quelle ottenute con funghi ad elevata attività pectolitica quali *Botrytis*, *Cladosporium*, *Sclerotinia*, *Sclerotium*, ecc. (Echandi e Walker, 1957; Husain e Rich, 1958 e dati nostri ancora inediti).

4) Riduzioni percentuali di viscosità di un certo rilievo si sono avute dopo 72, 120 e 240 ore nelle prove relative agli isolamenti Ve/3, La/1, Cm/1, Sa/1 e Gr/1. Per gli isolamenti a bassa attività Li/1, Li/2, Li/3, Ve/1, Ve/2, Ve/4, Cm/3, Pu/4, Pu/5, Si/1 e Si/2, a causa della autolisi delle soluzioni pectiche di confronto, la perdita percentuale di viscosità rilevata a 72 e/o 120 ore è risultata addirittura inferiore a quella rilevata a 24 ore.

5) L'attività pectin-metil-esterasica è stata dimostrata solo negli isolamenti che hanno manifestata una più elevata attività pectolitica totale.

6) Rispetto all'andamento della loro attività pectolitica negli intervalli considerati, i 19 isolamenti saggiati possono essere riuniti in tre gruppi abbastanza ben caratterizzati (fig. 1) e precisamente:

Gruppo I, comprendente gli isolamenti Li/1, Li/2, Li/3, Ve/1, Ve/2, Ve/4, Cm/3, Pu/4, Pu/5, Si/1, Si/2, a bassissima attività pectolitica;

Gruppo II, comprendente gli isolamenti Ve/3, La/1, Cm/1, Sa/1 e Gr/1, con attività

pectolitica inizialmente scarsa, aumentante notevolmente negli intervalli successivi;

Gruppo III, comprendente gli isolamenti Pu/1, Ca/1 e Si/3, con notevole attività sin dalle prime 24 ore, di poco aumentante nel periodo successivo.

Particolarmente significativo è il comportamento degli isolamenti Pu/1 e Ca/1, che già in base alle loro caratteristiche nutrizionali erano stati distinti in un gruppo a sè stante da Castellani e Matta (loc. cit.) e che inoltre differivano da tutti gli isolamenti allora presi in considerazione morfologicamente e per l'assenza dalle loro colture di sostanze mucillaginose (Matta e Abbattista Gentile, 1960).

Attività cellulosolitica

L'attività cellulosolica ⁽⁵⁾ è stata indagata, oltre che sui 19 isolamenti di *C. oleaginum* indicati nella Tabella I, su due altri di *Cycloconium* sp. ottenuti nel 1959 da foglie di *Phyllirea variabilis* e di *Quercus ilex* provenienti dal Lazio e qui contrassegnati rispettivamente con le sigle Ph/1 e Qu/1 ⁽⁶⁾.

Tutti i 21 isolamenti sono stati coltivati in 5 replicazioni con le stesse modalità seguite nella prova precedente, sostituendo nel substrato alla pectina un eguale quantitativo di metil-cellulosa, la cui somministrazione è risultata necessaria per indurre la produzione di cellulasi altrimenti prodotta in quantità irrilevante.

La produzione di cellulasi nei liquidi colturali è stata determinata in base alla perdita percentuale di viscosità da essi indotta in intervalli successivi in una soluzione di metilcellulosa ⁽⁷⁾ all'1,25 % tamponata a pH 4,5 con acido acetico e acetato di sodio.

All'uopo cm^3 5 di filtrato colturale di ogni singolo isolamento sono stati fatti agire su cm^3 30 della soluzione di metilcellulosa. In un'altra serie, tenuta come controllo, sono stati immessi uguali quantitativi di filtrati inattivati con riscaldamento a bagnomaria a 90°C per 10'.

La viscosità delle soluzioni è stata misurata cronometrando il loro tempo di efflusso da una pipetta tarata da cm^3 20 in posizione verticale, con diametro di apertura tale da consentire l'efflusso di una soluzione di glucosio all'1,5 % in acqua in 25" circa. Le determinazioni sono state effettuate alla temperatura di 20°C a distanza di 10, 20, 30 e 60

⁽⁵⁾ Per quanto riguarda la decomposizione biologica della cellulosa si rimanda al trattato ormai classico del Siu (1951).

⁽⁶⁾ Rinnoviamo i nostri ringraziamenti alla Dr. C. Modugno Pettinari dalla quale ci furono inviate dette foglie colpite da *Cycloconium*.

⁽⁷⁾ Prodotto fornito dalla Soc. REF Conconi e C. di Milano.

minuti primi dall'immissione dei filtrati; dopo tale intervallo non si sono riscontrate ulteriori variazioni di viscosità.

Nella Tabella III per ciascun isolamento si indicano i valori medi delle cinque repliche relative a:

- grado di sviluppo;
- tempi di caduta delle soluzioni di con-

fronto, riportati una sola volta non essendosi riscontrate variazioni nel tempo dovute ad autolisi della metilcellulosa;

- tempi di caduta delle soluzioni con filtrato attivo dopo i vari intervalli;
- diminuzioni percentuali di viscosità, calcolate secondo quanto indicato per l'attività pectolitica totale.

GRUPPO I

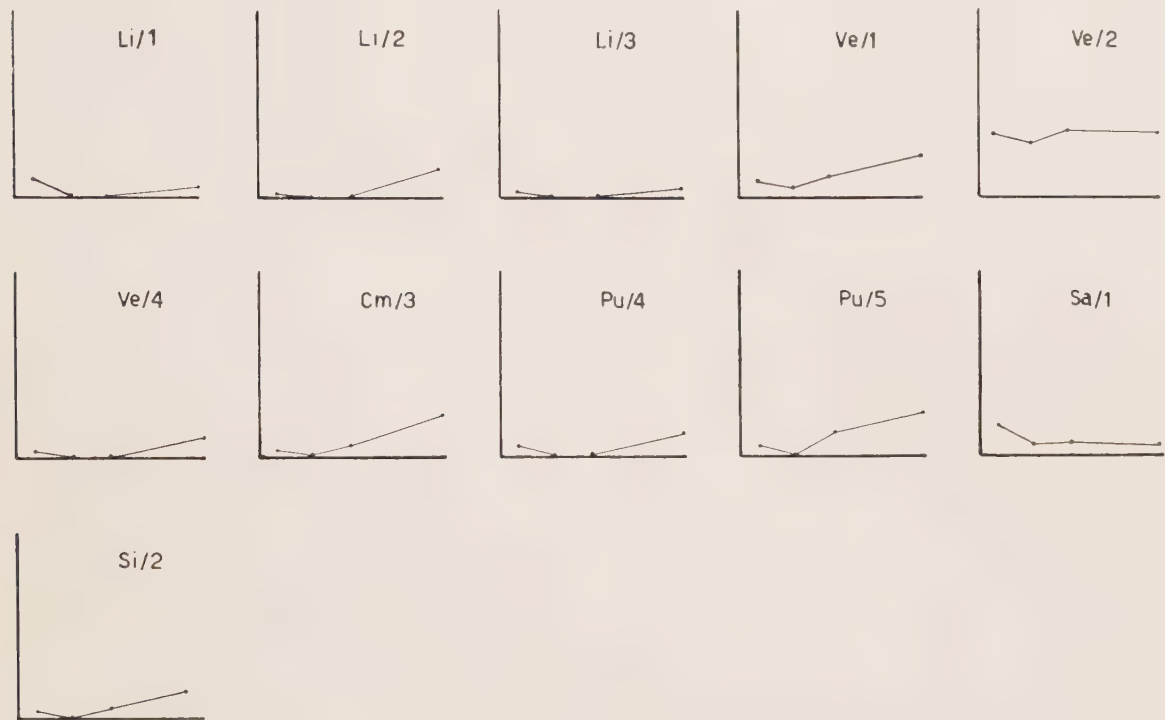


Fig. 1. - Rappresentazione grafica dell'andamento nel tempo della attività pectolitica totale di alcuni isolamenti di *C. oleaginum*. Sulle ordinate la perdita percentuale di viscosità; sulle ascisse i tempi delle successive determinazioni (24, 72, 120 e 240 ore).

Dall'esame dei dati relativi alla perdita percentuale di viscosità indotta nelle soluzioni di metilcellulosa nei diversi intervalli considerati, si rileva quanto segue:

1) I filtrati colturali di tutti i 21 isolamenti di *C. oleaginum* saggiati, hanno determinato, sia pure in misura molto modesta, una certa diminuzione di viscosità nelle soluzioni di metilcellulosa, non correlabile né al loro grado di sviluppo, né alla loro attività pectolitica.

2) Le piccole differenze presentate dai diversi isolamenti nella loro attività cellulolitica, più sensibili alla prima determinazione, non sembrano sufficienti per riunirli in gruppi a comportamento sotto questo riguardo differenziati.

Riassunto

Gli isolamenti di *C. oleaginum* hanno dimostrato scarsa attività pectolitica e cellulolitica. Dato l'elevato numero di isolamenti saggiato nelle varie prove e la molteplicità delle loro provenienze, la scarsa attitudine a produrre enzimi pectolitici e cellulolitici è da ritenersi una caratteristica costante della specie in esame.

Le differenze rilevate per quanto concerne l'attività pectolitica totale ed in particolare il suo andamento nel tempo, sembrano cioè non di meno sufficienti per riunire gli isolamenti saggiati in tre gruppi nei quali detta attività è rispettivamente *a)* sempre molto bassa, *b)* in leggero aumento nel tempo, *c)* relativamente elevata sin dalla prima determinazione. È interessante notare che gli isolamenti appartenenti al terzo gruppo già avevano presentato differenze rispetto all'utilizzazione dei vari zuccheri, alla sintesi della tiamina e alla produzione di sostanze mucillaginose in coltura, che avevano consentito di riunirli in due razze colturali a sé stanti (Castellani e Matta, 1960).

Nessuna differenza significativa è invece apparsa nei diversi isolamenti per quanto concerne la loro attività cellulolitica.

Summary

PECTO- AND CELLULOLYTIC ACTIVITY OF SEVERAL ISOLATES OF *CYCLOCONIUM OLEAGINUM* CAST.

Several isolates of *Cycloconium oleaginum* have been investigated in respect to pecto- and cellulolytic activity.

Differences observed in total pectolytic activity of the isolates allowed to distinguish them in three well characterized groups whose activity is *a)* always very low, *b)* increasing in the time and *c)* relatively high from the first determination. Presence of pectin methyl esterase was only demonstrated in the isolates with stronger total pectolytic activity.

Cellulolytic activity was always very low and the differences revealed were too little to distinguish the isolates in distinct groups.

Résumé

ACTIVITÉ PECTOLYTIQUE ET CELLULOSOLYTIQUE DE PLUSIEURS ISOLEMENTS DE *CYCLOCONIUM OLEAGINUM* CAST.

Plusieurs isoléments de *Cycloconium oleaginum* ont été étudiés dans le but d'en établir la capacité pectolytique et cellulolytique.

A l'égard de leur capacité d'attaquer les pectines l'on a pu distinguer ces isoléments en trois groupes:

a) ceux dont l'activité est toujours très faible;

b) ceux dont elle s'accroît avec le temps;

c) ceux, enfin, dont l'activité pectolytique paraît tout de suite relativement élevée.

Pour ce qui en est de l'activité cellulolytique, toujours très faible, les différences observées n'ont pas permis de subdiviser ces isoléments en groupes suffisamment définis par ce caractère.

LAVORI CITATI

- BROWN W., 1955. On the physiology of parasitism in plants. *Ann. appl. Biol.*, 43, 325-341.
- CASTELLANI E. e A. MATTÀ, 1960. Differenziazione nutrizionale di alcuni isolamenti di *Cycloconium oleaginum*. *Phytopath. medit.*, 1, 17-24.
- DEUEL H. e E. STUTZ, 1958. Pectic substances and pectic enzymes. *Advanc. Enzymol.*, 20, 341-382.
- ECHANDT E. e C. WALKER, 1957. Pectolitic enzymes produced by *Sclerotinia sclerotiorum*. *Phytopathology*, 47, 303-306.
- GRANITI A., 1960. Produzione di enzimi pectici da parte di *Phytophthora parasitica* Dast. e di *P. citrophthora* (Sm. et Sm.) Leon. isolate da agrumi. *Ann. Fac. Agr. Bari*, 13, 30-55.
- HEITEFUSS R., M. A. STAHMANN e C. WALKER, 1960. Production of pectolytic enzymes and fusaric acid by *Fusarium oxysporum* f. *conglutinans* in relation to cabbage yellows. *Phytopathology*, 50, 367-370.
- HUGHES S. J., 1953. Some foliicolous Hyphomycetes. *Canad. J. Bot.*, 31, 560-576.
- HUSAIN A. e A. E. DIMOND, 1960. Role of cellulolytic enzymes in pathogenesis by *Fusarium oxysporum* f. *lycopersici*. *Phytopathology*, 50, 329-331.
- HUSAIN A. e S. RICH, 1958. Extracellular pectic and cellulolytic enzymes of *Cladosporium cucumerinum*. *Phytopathology*, 48, 316-320.
- MATTÀ A. e I. ABBATTISTA GENTILE, 1960. Su una mucillagine prodotta da alcuni isolamenti di *Cycloconium oleaginum* Cast. *Nuovo G. bot. ital. n.s.*, 66, (in corso di pubblicazione).
- SIU R. G., 1951. Microbial decomposition of cellulose. Reinhold Publishing Co.
- WINSTEAD N. N. e J. C. WALKER, 1954. Production of vascular browning by metabolites from several pathogens. *Phytopathology*, 44, 153-158.
- WOOD R. K. S., 1955. Pectic enzymes secreted by pathogens and their role in plant infection. Mechanism of microbial pathogenicity. *5th Symp. Soc. Gen. Microb.*, 263-293.
- WOOD R. K. S., 1959. Pathogen factors in the physiology of disease-Pectic enzymes. In: *Plant Pathology. Problems and progress 1908-1958*. The University of Wisconsin Press, Madison, 100-109.

Osservazioni preliminari sul comportamento di *Pseudomonas medicaginis* f. sp. *phaseolicola* (Burk.) Dowson in presenza di antibiotici, *in vitro*

di GIAN LUIGI ERCOLANI

C.D.U. 632.911.2:576.851.132
Pseudomonas medicaginis phaseolicola

Assai numerosi, e sotto molti aspetti veramente esaurienti (Katznelson e Sutton, 1951; Mackay e Friend, 1953; Morgan e Goodman, 1955) sono stati negli ultimi anni i lavori riguardanti l'azione *in vitro* di antibiotici su *Pseudomonas medicaginis* f. sp. *phaseolicola* (Burk.) Dowson.

Tuttavia — data la diversità fisiologica verosimilmente intercorrente tra i ceppi del batterio saggiati dai ricordati sperimentatori, e quelli presenti in Italia — si è ritenuto opportuno compiere alcune osservazioni volte a caratterizzare il comportamento *in vitro* di taluni isolati di *P. medicaginis* f. sp. *phaseolicola* in presenza dei seguenti antibiotici ⁽¹⁾ scelti fra quelli di più larga diffusione:

- penicillina G sodica
- streptomina solfato
- cloramfenicolo
- clorotetraciclina (aureomicina)
- ossitetraciclina (terramicina)
- bacitracina
- neomicina solfato
- polimixina B solfato
- tirotricina
- viomicina solfato.

In particolare, le osservazioni oggetto della presente comunicazione sono state compiute su tre isolati del batterio in parola:

- isolato n. 1 (giugno 1958): da baccelli di fagiolo cv. « Borlotto di Vigevano » allevato a Calderara di Reno (Bologna);
 - isolato n. 2 (luglio 1959): da baccelli di fagiolo cv. « Infant de Mont Calme » allevato a Traghetto di Argenta (Ferrara);
 - isolato n. 3 (agosto 1959): da baccelli di fagiolo cv. « Meraviglia di Venezia » allevato a Smarano (Trento);
- coltivati, secondo quanto verrà appreso precisato, in uno dei substrati seguenti:

- substrato « A »: agar nutritivo preparato secondo la formula dell'A.T.C.C. (Committee on Bacteriological Technique of the Society of American Bacteriologists, 1957, p. 112, formula 23); pH, dopo la sterilizzazione, = 7,2;
- substrato « B »: agar nutritivo (estratto di carne peptonato, addizionato di estratto di lievito) preparato secondo la formula suggerita dalla S.A.B. (C.B.T. of the S.A.B., 1957, p. 42); pH come per il precedente;
- substrato « C »: brodo nutritivo (estratto di carne peptonato addizionato di estratto di lieviti) preparato secondo la formula della S.A.B. (C.B.T. of the S.A.B., 1957, p. 42); pH come per i precedenti.

Le prove sono state improntate a carattere di preliminariorietà suscettibile di eventuali successivi ampliamenti e revisioni.

I. - Determinazione della concentrazione minima inibente (C.M.I.) in substrato solido

TECNICA. Gli orientamenti seguiti nello svolgimento delle prove si sono discostati alquanto dai procedimenti usualmente adottati nella esecuzione di saggi con antibiotici. Si è ritenuto peraltro opportuno servirsi della tecnica che verrà qui di seguito esposta in quanto si è giudicato essere la più idonea a favorire — sia pure a scapito della rapidità di esecuzione — la maggiore sem-

(1) L'autore desidera ringraziare le seguenti Case, che hanno reso possibile lo svolgimento delle prove mettendo a disposizione i quantitativi richiesti degli antibiotici di rispettiva produzione: Aziende chimiche riunite F. Angelini, Istituto « Luso » farmaco d'Italia, Laboratorio chimico DECA (p.S.B. Penick, New York), Lepetit S.p.A., Pfizer italiana S.p.A., Valeas S.p.A.

plicità e le migliori condizioni di riproducibilità delle prove nei tempi successivi.

Preparazione delle sospensioni batteriche. Il batterio (isolato n. 1) veniva normalmente mantenuto a 25°C su strisci del substrato « A »; periodicamente, e secondo le necessità, da colture di 72 ore di età veniva tratto, mediante abrasione con lancetta, un inoculo quanto più possibile costante che era poi sottoposto a successive manipolazioni aventi lo scopo di porre il batterio in condizioni ottimali di accrescimento. A tal fine, detto inoculo era trasferito dapprima in provette contenenti strisci del substrato « B ». Dopo 72 ore di incubazione a 25°C, cinque di tali tubi erano estratti dal termostato, e ad ognuno di essi venivano aggiunti mediante pipetta 6 cc del substrato « C »; dopo delicata agitazione, la porzione liquida del contenuto dei cinque tubi veniva trasferita in un'unica bevuta sterile, ulteriormente agitata e successivamente ripartita in dieci tubi di coltura sterili. Questi ultimi, una volta richiusi, erano poi collocati in un apposito sostegno — costruito in modo da consentire all'asse longitudinale dei tubi di disporsi secondo un'inclinazione di 10° sull'orizzontale — e riportati a 25°C; dopo 48 ore (accrescimento ben marcato ed evidente), il contenuto dei diversi tubi veniva nuovamente riunito in un'unica bevuta e sottoposto a controllo per portare l'inoculo alla densità voluta.

All'uopo, una piccola parte (circa 1 cc) di sospensione batterica veniva prelevata asetticamente dalla bevuta, diluita ed introdotta in una siringa del tipo « insulina » da 2 cc, che veniva poi montata in un congegno (appositamente preparato apportando una banale modifica ad uno dei comuni tratteggigrafi per disegno reperibili in commercio) capace di comandarne l'emissione di volumi costanti di liquido. Regolato opportunamente il dispositivo di scatto del tratteggigrafo — e quindi l'escursione del pistone della siringa — 0,1 cc di sospensione batterica erano poi ripartiti su dieci vetrini coprioggetti 18 × 18 mm pulitissimi, i quali — dopo che la goccia depostavi si era distesa in velo continuo sull'intera loro superficie — venivano fissati in corrente di vapore. Su ognuno dei vetrini — colorati con Ziehl e montati — venivano poi osservati, con oculare 15 × e obiettivo 45 ×, dieci campi microscopici; la media aritmetica del numero di cellule batteriche presenti in ogni campo, moltiplicata per un opportuno fattore, era poi assunta come stima della densità batterica nella sospensione iniziale. Sulla base della stima ottenuta, detta densità veniva infine portata a 2×10^7 /cc.

Preparazione delle soluzioni di anti-

biotico. Le soluzioni erano approntate sciogliendo dapprima in acqua sterile ⁽²⁾ una quantità di antibiotico calcolata in modo da ottenere inizialmente una concentrazione di principio attivo uguale a 320 p.p.m. Per passaggi e diluizioni successive, veniva poi preparata una serie di dieci tubi contenenti ciascuno 5 cc di soluzione con titolo, rispettivamente, dimezzato da 320 a 160, ..., 0,625 p.p.m.; il residuo dell'ultimo passaggio, infine, veniva ulteriormente diluito in modo da ottenerne 10 cc di soluzione a 0,3125 p.p.m.

Preparazione dei recipienti di coltura. Scatole Petri Ø 10 cm e anelli di vetro di altezza 1,5 cm e diametro interno 2 cm erano sterilizzati — in numero corrispondente al bisogno — in stufa a secco a 140°C per 30' per due volte in due giorni successivi. Entro ogni scatola sterile veniva poi versato il contenuto, fluidificato, di un tubo racchiudente 10 cc (misurati prima della sterilizzazione) del substrato « B »; successivamente, sull'agar ancora liquido, erano collocati asetticamente nove anelli — del tipo descritto — i quali venivano così a delimitare, in ogni scatola, altrettante più piccole celle.

Esecuzione delle prove. Al momento dell'esecuzione delle prove, al contenuto di ciascuno dei tubi costituenti la serie di diluizioni dell'antibiotico venivano aggiunti 5 cc di sospensione batterica, ottenendone dieci tubi in ognuno dei quali gli individui di *P. medicaginis* f. sp. *phaseolicola* — in numero definitivo presuntivo di 10^7 /cc — si trovavano esposti a concentrazioni di antibiotico pari, rispettivamente, a 160, 80, ..., 0,3125 p.p.m. Successivamente, con la siringa venivano prelevati da ogni tubo (a partire da quello contenente la minore concentrazione di antibiotico) 2 cc di liquido, di cui — con l'aiuto del congegno dosatore sopra descritto — ne venivano distribuiti 0,01 cc in ognuna delle cellette contenute in cinque scatole Petri. Al termine delle operazioni di semina per ciascuna concentrazione, e prima di procedere per la successiva, la siringa veniva smontata, lavata e nuovamente sterilizzata mediante semplice ebollizione.

Ultimato il trasferimento del contenuto dei dieci tubi, la soluzione « pura » di antibiotico a 0,3125 p.p.m. era poi portata — con identica manualità — nelle cellette di altre cinque scatole al fine di verificarne la sterilità.

Per controllare la uniformità dell'inoculo nelle prove successive, infine, la sospensione batterica iniziale veniva diluita fino

(2) Per la tirotricina, insolubile in acqua, le preparazioni venivano eseguite, secondo le indicazioni della Casa fornitrice, sciogliendo dapprima l'antibiotico in alcool (sol. 1 : 15) e quindi sospendendo in acqua la soluzione ottenuta.

a portare la sua densità presunta a 10^3 /cc. Partendo da 10 cc di quest'ultima sospensione, e procedendo per passaggi e diluizioni successive, veniva poi preparata una serie di dieci tubi in ciascuno dei quali erano introdotti 5 cc di sospensione batterica avente densità dimezzata rispetto a quella contenuta nel tubo precedente; da ogni tubo, infine, veniva tratto (e trasferito secondo le modalità note) l'inoculo per le nove cellette di una scatola Petri.

Tutte le piastre trattate erano poi introdotte in termostato a 25°C .

Rilevamento dei risultati. Il rilevamento dei risultati delle singole prove veniva compiuto 48 ore dopo il termine delle operazioni descritte al capoverso precedente.

Le scatole venivano esaminate a luce incidente e per trasparenza, e per ognuna di esse era registrato il numero di cellette in cui il batterio si era sviluppato. In particolare:

- veniva assunta come C.M.I. la più bassa concentrazione di antibiotico in presenza della quale lo sviluppo del batterio era apparentemente nullo;

- se nelle celle delle scatole trattate unicamente con la soluzione di antibiotico erano presenti tracce di vegetazione microbica, la prova veniva ripetuta *ex novo* ⁽³⁾;

- i rilievi compiuti sulle scatole inoculate con la sospensione batterica sola venivano elaborati statisticamente (Finney, 1951) per ottenere una stima del numero di cellule batteriche vitali contenute nella sospensione iniziale. Se il valore di tale stima avesse ecceduto i limiti fiduciari di una qualsiasi delle stime precedentemente eseguite, la prova sarebbe stata ripetuta ⁽⁴⁾.

Controllo della costanza dei risultati. I risultati di ogni prova venivano sottoposti ad ulteriore parziale verifica ripetendo la prova medesima con lo stesso procedimento descritto sopra, salvo le seguenti varianti:

- l'antibiotico veniva saggiato a tre sole concentrazioni: quella precedentemente identificata come C.M.I., e quelle immediatamente superiore ed inferiore nella serie di diluizioni adottate;
- per ogni concentrazione, venivano inoculate tutte le celle di dieci, anziché cinque, scatole Petri.

RISULTATI. Sono state individuate le C. M.I. riportate in Tab. I.

In questa prima serie di prove orientative, gli antibiotici dotati di maggiore efficacia inibente su *P. medicaginis* f.sp. *phaeolicola* sono apparsi le tetraciline e la streptomina, seguiti dai più tipici polipep-

tidi (nell'ordine: neomicina, viomicina, polimixina e tirotricina); minore attività hanno esplicato il cloramfenicolo, la bacitracina e la penicillina.

II. - Determinazione della C.M.I. in substrato liquido

TECNICA. Le prove sono state eseguite con gli isolati n. 1, n. 2 e n. 3. La tecnica riportata si riferisce al procedimento usato nei saggi compiuti con ciascuno dei tre isolati.

Preparazione delle sospensioni batteriche. Veniva seguito il descritto procedimento usato per la determinazione della C.M.I. in substrato solido. La densità batterica finale presunta era poi portata a 10^8 /cc.

Preparazione delle soluzioni di antibiotico. Le soluzioni acquose degli antibiotici erano preparate — in quantità di 10 cc per ogni concentrazione — in una delle due seguenti serie di diluizioni:

1^a serie: 500, 400, 300, 200, 100, 50 p.p.m.;

2^a serie: 50, 40, 30, 20, 10, 5 p.p.m.;
di cui la prima era utilizzata per i saggi con penicillina, cloramfenicolo, bacitracina e tirotricina, e la seconda per quelli con streptomina, aureomicina, terramicina, neomicina, polimixina e viomicina.

Substrato e recipienti di coltura. Le prove erano eseguite in tubi 16×160 mm contenenti 8 cc (misurati prima della sterilizzazione) del substrato « C ».

Esecuzione delle prove. Per ogni concentrazione saggiata, a cinque tubi di brodo venivano aggiunti con pipetta sterile 1 cc di sospensione batterica e 1 cc di soluzione di antibiotico precedentemente miscelati tra loro: in tal modo la densità batterica presunta veniva ridotta a 10^7 /cc, e le concentrazioni di antibiotico abbassate a 1/10 di quelle sopra riportate.

Per controllarne la sterilità, 10 cc della soluzione a minor concentrazione di antibiotico erano ripartiti e trasferiti con pipetta sterile in dieci tubi di brodo a ognuno dei quali era stato precedentemente aggiunto 1 cc di acqua sterile.

Per verificare la uniformità dell'inoculo nelle prove successive, veniva preparata una serie di dieci tubi, dei quali il primo conteneva 15 cc di sospensione batterica con densità presunta 10^2 /cc, ed i successivi uguali volumi di sospensione aventi densità progressivamente dimezzata. Da ciascun tubo venivano poi tratti 10 cc di sospensione che erano ripartiti e distribuiti con pipetta sterile in cinque tubi di brodo.

⁽³⁾ Ciò accadde solo una volta, in una prova con streptomina solfato.

⁽⁴⁾ Tale eventualità non ebbe mai a verificarsi.

TABELLA I. - C.M.I. di antibiotici, in substrato solido e liquido, per diversi isolati di *P. medicaginis* f. sp. *phaseolicola*.

A n t i b i o t i c o	Concentrazione Minima Inibente (p.p.m.)			
	in substrato solido	in substrato liquido		
		(isolato n. 1)	(isolato n. 2)	(isolato n. 3)
Terramicina	2,5	0,8	1	0,8
Aureomicina	2,5	1	1,6	1,2
Streptomicina solfato	2,5	1,2	2,4	2,2
Neomicina solfato	5	1,6	1,8	1
Viomicina	5	2,6	1,8	1,8
Polimixina B solfato	10	3	4,2	4
Tirotricina	10	24	24	20
Cloramfenicolo	20	16	14	18
Bacitracina	40	28	32	22
Penicillina G sodica	80	40	40	44

Tutti i tubi erano infine introdotti in termostato a 25°C ed ivi mantenuti in posizione eretta.

Rilevamento dei risultati. I risultati delle prove erano rilevati dopo 24 ore, in modo analogo a quello indicato per i saggi in substrato solido.

Controllo della costanza dei risultati. Ogni prova veniva ripetuta con identica manualità, utilizzando cinque diverse concentrazioni di antibiotico comprese — e disposte secondo intervalli uguali fra loro — fra quella precedentemente individuata come C.M.I. e quella immediatamente inferiore nella serie di diluizioni adottata all'inizio.

RISULTATI. I risultati ottenuti sono riportati in Tab. I.

Le tetracicline hanno confermato le loro qualità inibenti su tutti gli isolati di *P. medicaginis* f.sp. *phaseolicola*. Seppur buona, variabile — in funzione dei caratteri particolari dell'isolato di volta in volta proposto — è stata invece l'attività svolta da streptomicina, neomicina e viomicina. I polipeptidi polimixina e tirotricina — che in substrato solido sortivano eguali risultati — sono venuti esibendo una notevole differenziazione, estrinsecatasi in un aumento di efficacia per il primo e in una diminuzione per il secondo; questo ultimo fatto trova verosimile giustificazione nella insolubilità in acqua — e quindi nella scarsa diffusibilità in piastra — della tirotricina. Cloramfenicolo, bacitracina e penicillina non hanno mostrato differenze degne di rilievo rispetto agli effetti conseguiti in substrato solido.

III. - Resistenza acquisita ⁽⁵⁾, resistenza incrociata e sensibilità collaterale

Fenomeni di resistenza acquisita, resi-

⁽⁵⁾ Tale dizione, seppure inesatta, viene qui usata in quanto di più larga accezione.

stenza incrociata e sensibilità collaterale dei batteri agli antibiotici *in vitro* sono stati ripetutamente e dettagliatamente studiati in pa-

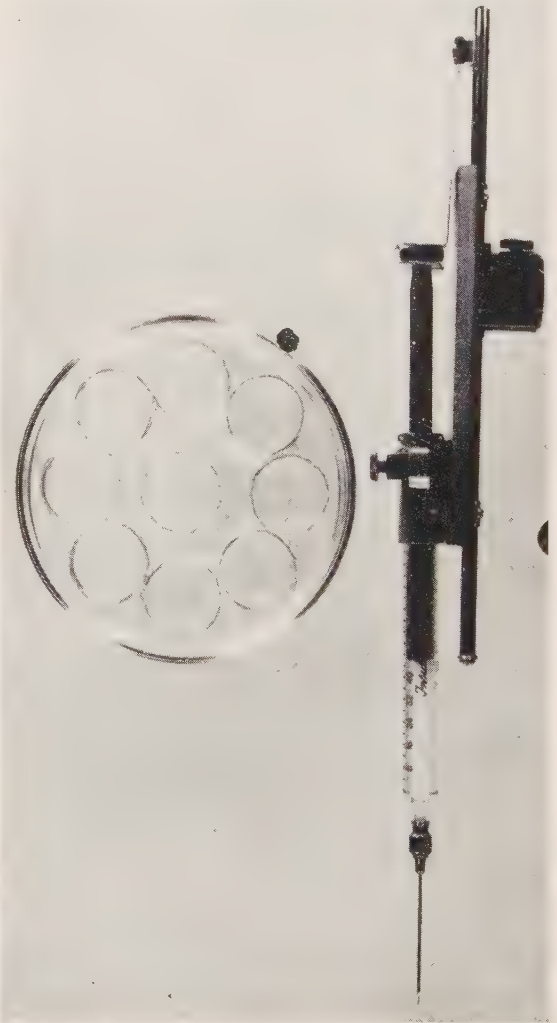


Fig. 1. - Attrezzatura usata per i saggi di determinazione della C.M.I. di antibiotici su *P. medicaginis* f. sp. *phaseolicola*, in substrato solido.

tologia umana e, per talune specie, anche nel settore fitopatologico (Carmona-Gomez, 1956; English e Van Helsema, 1954; Troutman, 1959). Per quanto riguarda invece, in particolare, *P. medicaginis* f.sp. *phaseolicola*, non ci risulta che l'esistenza di siffatto comportamento fosse stata finora sicuramente individuata; per tale motivo riteniamo opportuno dar conto di alcune osservazioni — improntate ai già richiamati criteri di preliminariorietà — relativi a tali aspetti del comportamento dell'isolato n. 1 del batterio in parola, limitatamente ai seguenti antibiotici: penicillina G sodica, streptomycina solfato, cloramfenicolo, aureomicina, terramicina, bacitracina e neomicina solfato.

TECNICA. Le osservazioni erano eseguite in diretta continuazione delle prove volte al controllo della costanza delle C.M.I. in substrato liquido. Dopo il rilevamento dei risultati di tali prove, infatti, i tubi — che avessero presentato segni di accrescimento del batterio in presenza della concentrazione c_1 di antibiotico immediatamente inferiore alla C.M.I. — erano riportati a 25°C, quivi mantenuti per altri cinque giorni e poi versati in un'unica bevuta. A partire da questo momento, aveva inizio la serie dei trapianti in presenza di quantità progressivamente crescenti del medesimo antibiotico, secondo lo schema seguente:

- 1) preparazione di una serie di diluizioni dell'antibiotico, aventi titoli progressivamente variabili da 5 ($c_1 - \frac{1}{10} 2^1$) ppm a 5 ($c_1 + \frac{1}{10} 2^n$) ppm (con i variabile da 0 a 1, 2, 3, ..., n ed n uguale al più grande intero positivo compatibile con la presenza di antibiotico nella soluzione; ed i' variabile da 0 a 1, 2, 3, ..., 10);

2) prelievo con pipetta sterile di 5 cc di ognuna di tali soluzioni di antibiotico, e loro ripartizione in cinque tubi — contenenti ciascuno 4 cc (misurati prima della sterilizzazione) del substrato n. 3 — in modo da riportare le concentrazioni di antibiotico a 1/5 di quelle scritte sopra;

3) trapianto, nei tubi così allestiti, di una ansata di inoculo prelevato (con ansa Ø 4 mm) dalla bevuta iniziale;

4) trasferimento — per controllarne la sterilità — di 1 cc della soluzione più diluita di antibiotico in cinque tubi del substrato « C »;

5) incubazione di tutti i tubi in termostato a 25°C per sette giorni;

6) esame dell'esito dei trapianti e riunione in un'unica bevuta del contenuto dei tubi presentanti segni di accrescimento del batterio in presenza della concentrazione c_2 di antibiotico immediatamente inferiore alla nuova C.M.I..

In totale, per ogni antibiotico, si eseguivano dieci di tali trapianti sostituendo progressivamente alla concentrazione c_1 le successive c_2, c_3, \dots, c_{10} (di norma crescenti nel senso indicato dagli indici).

Terminata l'incubazione dei tubi allestiti nel corso del decimo trapianto, veniva preparata — per ciascuno degli antibiotici in osservazione — una serie di nove diluizioni, di cui la prima uguale a 5/2 delle rispettive C.M.I. (Tab. I) e le seguenti disposte secondo concentrazioni progressivamente raddoppiate; 5 cc di ognuna di tali soluzioni venivano prelevati e ripartiti in cinque tubi contenenti, ancora, 4 cc del substrato n. 3. Ogni tubo, infine, era inoculato con un'ansata di sospensione batterica prelevata dalla bevuta contenente la c_{11} e messo ad incubare — unitamente ai tubi preparati nel modo solito per il controllo della sterilità — in termostato a 25°C per sette giorni.

TABELLA II. - Resistenza acquisita, resistenza incrociata e sensibilità collaterale di *P. medicaginis* f. sp. *phaseolicola* a taluni antibiotici. A sinistra sono segnati gli antibiotici a dosi crescenti ai quali il batterio è stato esposto nel corso di dieci successivi trapianti; sopra, nello stesso ordine, gli antibiotici cui il batterio è stato esposto dopo l'ultimo di detti trapianti. I valori tabulati rappresentano i fattori per cui deve essere moltiplicata la C.M.I. iniziale di ciascun antibiotico (riportata per comodità in alto, fra parentesi, in p.p.m.) al fine di ottenere la concentrazione inibente del medesimo sul batterio trapiantato in presenza dell'altro corrispondentemente scritto a sinistra.

Dopo 10 trapianti in presenza di:	C.M.I.	TM (0,8)	AU (1)	SM (1,2)	NM (1,6)	CF (16)	BT (28)	PN (40)
Terramicina	8	8	1	1	1	1	1	1
Aureomicina	4	4	1	1	1	1	1	1
Streptomycina solfato	1	1	64	2	1	0,5	0,5	
Neomicina solfato	1	1	4	32	1	1	0,5	
Cloramfenicolo	1	1	1	16	1	1	1	
Bacitracina	1	1	1	0,5	1	8	2	
Penicillina G sodica	1	1	0,5	1	1	2	4	

RISULTATI. Sono stati rilevati i risultati figuranti in Tab. II.

Il grado di resistenza acquisita è risultato, logicamente, soggetto a forti variazioni quantitative in funzione dell'antibiotico esaminato. È stato massimo per la streptomina; minore, nell'ordine, per neomicina, cloramfenicolo, bacitracina e terramicina; minimo per penicillina e aureomicina.

Fenomeni di resistenza incrociata parallela sono stati messi in evidenza per le tetraciline fra di loro, per streptomina e neomicina, e per bacitracina e penicillina.

Sensibilità collaterale parallela ha avuto luogo fra streptomina e penicillina; unilateralmente, nell'ordine scritto, fra streptomina e bacitracina; neomicina e penicillina; cloramfenicolo e bacitracina; bacitracina e neomicina.

Riassunto

Sono esposti la tecnica ed i risultati di alcune osservazioni preliminari volte alla individuazione della C.M.I. di taluni antibiotici, in substrato solido e liquido, per *Pseudomonas medicaginis* f.sp. *phaseolicola* (Burk.) Dowson, e alla caratterizzazione delle manifestazioni di resistenza acquisita, resistenza incrociata e sensibilità collaterale offerte dallo stesso batterio in loro presenza.

Nella prima serie di prove orientative in substrato solido, gli antibiotici dotati di maggiore efficacia inibente sono apparsi le tetraciline e la streptomina, seguiti nell'ordine da neomicina, viomicina, polimixina, tirotricina, cloramfenicolo, bacitracina e penicillina.

In substrato liquido, le tetraciline hanno confermato le loro qualità inibenti su tutti gli isolati del batterio. Buona, ma variabile — in funzione dei caratteri particolari dell'isolato di volta in volta proposto — è stata invece l'attività svolta da streptomina, neomicina e viomicina. Rispetto all'efficacia presentata in substrato solido, la polimixina ha manifestato un notevole miglioramento; il contrario è avvenuto per la tirotricina (insolubile in acqua). Cloramfenicolo, bacitracina e penicillina non hanno invece mostrato, al riguardo, differenze degne di nota.

Il grado di resistenza acquisita è stato massimo per la streptomina; minore, nell'ordine, per neomicina, cloramfenicolo, bacitracina e terramicina; minimo per penicillina e aureomicina.

Fenomeni di resistenza incrociata parallela sono stati messi in evidenza per le tetraciline tra di loro, per streptomina e neomicina, e per bacitracina e penicillina.

Sensibilità collaterale parallela ha avuto luogo fra streptomina e penicillina; unilateralmente, nell'ordine scritto, fra streptomina e bacitracina; neomicina e penicillina; cloramfenicolo e bacitracina; bacitracina e neomicina.

Summary

PRELIMINARY OBSERVATIONS ON THE BEHAVIOUR OF *PSEUDOMONAS MEDICAGINIS* F.SP. *PHASEOLICOLA* (BURK.) DOWSON IN THE PRESENCE OF ANTIBIOTICS, *IN VITRO*

The technique and results of preliminary observations are reported, which aimed at find-

ing the minimal inhibitory concentration of some antibiotics (penicillin-G Na, streptomycin sulphate, chloramphenicol, aureomycin, terramycin, bacitracin, neomycin sulphate, polymyxin-B sulphate, tyrothricin and viomycin), in liquid and solid medium, and the characterization of the manifestations of acquired resistance, cross-resistance and collateral sensitivity offered by the same bacterium in the presence of some of them (penicillin - G Na, streptomycin sulphate, chloramphenicol, aureomycin, terramycin, bacitracin and neomycin sulphate).

The minimal inhibitory concentration in solid medium was found using one single isolate of the bacterium, by means of a particular technique consisting mainly in the macroscopic examination of the bacterial growth in nutrient-agar plates, inoculated with drops (having a constant volume of cc 0,01) of the bacterial suspension to which different concentrations of the various antibiotics had been added. In this test, the results of which are shown more in detail in Table I, the antibiotics with the greatest inhibitory efficiency were found to be the tetracyclines and streptomycin, followed by neomycin, viomycin, polymyxin, tyrothricin, chloramphenicol, bacitracin and penicillin.

The test made for finding the minimal inhibitory concentration in liquid medium — made using the technique of the consecutive dilutions, and extended to three isolates of the bacterium — supplied results (Table I) which constantly confirm the inhibiting qualities of the tetracyclines. Good, but varying — depending on the special characteristics of the isolates tested each time — was instead the activity of streptomycin, neomycin and viomycin. With reference to the efficiency shown in solid medium, polymyxin showed a remarkable improvement; the contrary happened with tyrothricin (insoluble in water). Chloramphenicol, bacitracin and penicillin did not show noteworthy differences.

The manifestations of acquired resistance, cross-resistance and collateral sensitivity (Table II) were examined making — at a distance of 7 days from each other — ten transplants of the bacterium in the presence of sub-inhibitory amounts (progressively increased) of the same antibiotic and, after the last transplant, exposing at the same time the bacterium to a series of dilutions of all the tested antibiotics.

The degree of acquired resistance was greatest for streptomycin; smaller for neomycin, chloramphenicol, bacitracin and terramycin; minimum for penicillin and aureomycin respectively.

Parallel cross-resistance was observed for the two tetracycline analogues, for streptomycin and neomycin, and for bacitracin and penicillin.

Parallel collateral sensitivity took place between streptomycin and penicillin; one-way collateral sensitivity, in the mentioned order, between streptomycin and bacitracin; neomycin and penicillin; chloramphenicol and bacitracin; bacitracin and neomycin.

Résumé

ESSAIS PRELIMINAIRES AVEC *PSEUDOMONAS MEDICAGINIS* F. SP. *PHASEOLICOLA* (BURK.) DOWSON EN PRESENCE D'ANTIBIOTIQUES, *IN VITRO*

On expose la technique et les résultats d'essais préliminaires adressés à la détermination

de la plus petite concentration inhibitive de quelques antibiotiques (pénicilline-G Na, streptomycine sulfate, chloramphénicol, auréomycine, terramycine, bacitracine, néomycine sulfate, polymyxine-B sulfate, tyrothricine et viomycine) dans des milieux solides et liquides et à la caractérisation des manifestations de résistance acquise, résistance croisée et sensibilité collatérale offertes par la même bactérie en présence de quelques-uns d'entre eux (pénicilline-G Na, streptomycine sulfate, chloramphénicol, auréomycine, terramycine, bacitracine et néomycine).

On a mené à bonne fin la détermination de la plus petite concentration inhibitive en milieu solide, en n'employant qu'une seule souche de la bactérie, en se servant d'une particulière technique consistant essentiellement dans le relèvement macroscopique de l'accroissement bactérien en plaques de gélose nutritive inoculées avec des gouttes (ayant un volume constant de cc 0,01) de la suspension bactérienne additionnée précédemment de chaque antibiotique en différentes concentrations. Dans cet essai, dont les résultats sont exposés sur le tableau I, on a remarqué que les antibiotiques doués d'une plus grande efficacité inhibitive sont les tétracyclines et la streptomycine, suivis par ordre de la néomycine, viomycine, polymyxine, tyrothricine, chloramphénicol, bacitracine et pénicilline.

Les essais regardant la détermination de la plus petite concentration inhibitive en milieu liquide — exécutés selon la technique des dilutions successives et étendus à trois souches de la bactérie ci-dessus nommée — ont fourni des résultats (Tabl. I) confirmant constamment les qualités inhibitives des tétracyclines. L'activité développée par la streptomycine, la néomycine et la viomycine a été bonne, mais variable en fonction des caractères particuliers de chaque souche. Après de l'efficacité présentée en milieu solide, la polymyxine a révélé une sensible augmentation; il est arrivé le contraire pour la tyrothricine (insoluble dans l'eau). Chloramphénicol, bacitracine et pénicilline n'ont pas montré, à cet égard, des différences dignes de remarque.

On a examiné les manifestations de résistance acquise, de résistance croisée et de sensibilité collatérale (Tabl. II) en exécutant, à la distance de 7 jours l'un de l'autre, dix repiquements de la bactérie en présence de doses progressivement croissantes du même antibiotique

et, après le dernier repiquement, en exposant simultanément la bactérie à una série de dilutions de tous les antibiotiques essayés.

Le degré de résistance acquise a été maximum pour la streptomycine; plus petit, dans l'ordre, pour la néomycine, le chloramphénicol, la bacitracine et la terramycine; minimum pour la pénicilline et l'auréomycine.

Des phénomènes de résistance croisée ont été mis en évidence pour les tétracyclines entre elles, pour la streptomycine et la néomycine, et pour la bacitracine et la pénicilline.

Une sensibilité collatérale parallèle a eu lieu entre la streptomycine et la pénicilline; et unilatéralement, dans l'ordre écrit, entre streptomycine et bacitracine, néomycine et pénicilline, chloramphénicol et bacitracine, bacitracine et néomycine.

LAVORI CITATI

CARMONA-GOMEZ J., 1956. In vitro development of resistance to an antibiotic by two plant pathogenic bacteria. *Phytopathology*, 46, 522-523.

COMMITTEE ON BACTERIOLOGICAL TECHNIQUE OF THE SOCIETY OF AMERICAN BACTERIOLOGISTS, 1957. Manual of Microbiological Methods. Mc Graw Hill Book Co. Inc., New York, 315 pp.

ENGLISH A. R. e G. VAN HELSEMA, 1954. A note on the delay in the emergence of resistant *Xanthomonas* and *Erwinia* strains by the use of streptomycin plus terramycin combinations. *Plant Dis. Rptr.*, 38, 429-431.

FINNEY D. J., 1951. The estimation of bacterial densities from dilution series. *J. Hyg. Camb.*, 49, 26-35.

KATZNELSON H. e M. D. SUTTON, 1951. Inhibition of plant pathogenic bacteria *in vitro* by antibiotics and quaternary ammonium compounds. *Canad. J. Bot.*, 29, 270-278.

MACKAY J. H. E. e J. N. FRIEND, 1953. The effectiveness of antibiotics against some bacterial plant pathogens. *Aust. J. biol. Sci.*, 6, 481-484.

MORGAN B. S. e R. N. GOODMAN, 1955. In vitro sensitivity of plant bacterial pathogens to antibiotics and antibacterial substances. *Plant Dis. Rptr.*, 39, 487-490.

TROUTMAN J. L., 1959. Development of resistance to streptomycin by *Pseudomonas tabaci*. *Phytopathology*, 49, 553.

E R R A T A

Vol.	n.	pagina page	colonna column colonne	paragrafo paragraph paragraphe	linea line ligne	leggere: read: lire:
I	1	1	1	1	13-14	This highly local plant pathological knowledge, though...

Comments on some statements of Professor Reichert

by RAFFAELE CIFERRI

In the first number of « *Phytopathologia Mediterranea* » (*On research and cooperation of Mediterranean Phytopathologists*, pages 1-4), Professor Reichert, phytopathologist of the Agricultural Experiment Station of Rehovot (Israel), uses Ciferri's « *Manuale di Patologia Vegetale* » ⁽¹⁾ as an example of inaccuracy in the geographical distribution of Mediterranean plant diseases. In this Manual it is written that the anthracnose of the Vine exists in the Mediterranean, when, according to Reichert it is not found in some of the countries of the East and European Russia, nor, says he, in the interland of Sicily. He cites again the same Manual for the affirmation that the first treatment against downy mildew of the Vine is made when the shoots are 15-20 cm long, when in Israel the shoots can be 75-150 cm long.

The eminent Professor Reichert, only affirming it, does not seem to have considered the fact that the « *Manuale di Patologia Vegetale* » is a text book for students and not a reference book for research workers or a collection of monographic treatments. When one teaches that a disease is cosmopolitan, this does not necessarily mean to the student that it does not occur in the Galapagos or Ascension Islands. To the student it is sufficient to know that « *mal secco* » of Citrus is found in the central-eastern Mediterranean; it is not essential to be so precise as to say on which islands of the eastern Mediterranean the disease has been found, even if that is known ⁽²⁾.

The same can be said for the indication that the first treatment against downy mildew is applied when the shoots are 15-20 cm long. Everyone knows well enough that the length of the shoots cannot be used as indication of the time of treatment, and three citations should not be necessary to point out what every good viticulturist already knows. But it is still a fact that the first treatment in north-central Italy (which has the most valuable Italian vine grape culture)

coincides with that period of growth and thus is an established fact commonly taught.

With respect to the Sunflower and attacks by *Sclerotinia sclerotiorum*, Reichert accuses the writer (Ciferri) of failing to specify whether in Italy this disease is also found in the southern part and in Sicily. It would be easy to reply that the Sunflower is grown only occasionally in Italy and almost entirely for domestic use and, therefore, its pathology is almost unknown. Furthermore the distribution of the sclerotium disease on this plant in Italy probably is not known.

It would be easy to retort to Reichert that he should himself commence now to speak of Israel not as one ecological unit, but as several different phytopathological zones, which the distinguished, late botanist, Eig, has already done, that the « solid biogeographical foundation » that himself invokes, is critical also for Israel.

No one should ever criticize on the basis of considering as mediterranean Yugoslavia, of which only a minor part is such, nor as mediterranean Portugal, atlantic-oceanic, and Egypt, of which most is of the saharo-sindic region. Nor that the Olive tree is not the best plant indicator of the Mediterranean, because its ecological environment is not uniform throughout the area of its production. In the spirit of the review the areas covered are very good. But one cannot be critical of others for an approximate phytogeography, which already has been done in establishing the journal that carries the article by Reichert.

(1) Reichert cites the first edition (1941); it would have been better to have used at least the second edition (1952-1955) which, although already out of date, is more recent than the other by a decade.

(2) And even if one were willing to do it, many times the necessary data are not available. A good example is the inevitable approximation of the diligent maps of the geographic distribution of parasites and diseases published by the Commonwealth Mycological Institute of Kew.

RECENSIONI - REVIEWS - REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

G. GOIDANICH - MANUALE DI PATOLOGIA VEGETALE, Edagricole, Bologna, Vol. I, 713 pp., Lire 7.000.

Il volume I del nuovo « Manuale » di G. GOIDANICH comprende la Patologia vegetale generale, e precisamente: storia e generalità sulla Patologia vegetale; sintomatologia; anatomia patologica; fisiopatologia, patogenesi; epidemiologia; terapia. L'ultimo capitolo del volume è anche il primo della parte speciale che occuperà gli altri volumi e di essa parte speciale tratta le fisiopatie.

Il volume, presentato in bella veste tipografica con nitide tavole e disegni e ottime fotografie in bianco e nero e a colori, ha felicemente condensato la vastità degli argomenti ai quali, anno per anno, la Patologia vegetale estende il suo interesse. Vi sono oltre 30 pagine dedicate all'importanza economica, alla dannosità e alla valutazione economica delle malattie; oltre 20 pagine dedicate alle ferite e ai processi di riparazione e rigenerazione; quasi 100 pagine per la fisiopatologia e la descrizione dei processi patogenetici. Di particolare interesse pratico sembrano l'attenta descrizione delle tecniche di disinfezione del suolo (oltre 15 pagine), il capitolo sui diserbanti, che è quasi una novità per i nostri manuali (oltre 50 pagine), la descrizione delle macchine per l'applicazione dei trattamenti (oltre 25 pagine). Nel volume è fatto anche cenno, naturalmente fuggevole, dello « smog », della difesa antigrandine, di organizzazione dei servizi fitopatologici.

Tanta copia di nozioni è esposta in modo semplice e chiaro. Il volume sarà pertanto accolto con piacere non solo dagli studenti, che potranno « saltare » qualche pagina qua e là, ma anche dai tecnici, dai fitopatologi e forse soprattutto dai docenti della materia, per i quali è talora difficile indicare libri ai quali riferirsi su argomenti sviluppatasi in questi ultimi anni.

G. GOIDANICH - MANUALE DI PATOLOGIA VEGETALE, Edagricole, Bologna, Vol. I, 713 pp., 7.000 lire.

Le premier volume du nouveau « Manuale » de G. GOIDANICH comprend la Pathologie végétale générale et précisément: histoire et principes généraux de la Pathologie végétale; symptomatologie; anatomie pathologique; physiopathologie; pathogenèse; épidémiologie; thérapie.

Le dernier chapitre du volume est aussi le premier de la partie spéciale traitée dans les autres volumes et traite les physiopathies ou maladies physiologiques. Le volume, qui se présente dans une belle édition, avec des tables et des dessins bien nettes et de très bonnes photographies en blanc et noir et en couleurs, a très bien condensé la vastité des arguments, auxquels la Pathologie végétale étend chaque année son intérêt.

Il y a outre 30 pages sur l'importance économique et la valuation des maladies, outre 20 pages sur les blessures, leur réparation et régé-

nération, presque 100 pages pour la physiopathologie et la description des processus de pathogenèse.

D'un particulier intérêt semble être la description détaillée des techniques de désinfection du sol (outre 15 pages), le chapitre sur les dés-herbants, qui est presque une nouveauté pour nos manuels (outre 50 pages), la description des machines pour l'application des traitements (outre 25 pages).

Dans le volume on donne aussi quelques notices, naturellement rapides, sur le « smog », la défense antigrêle et l'organisation des services phytopathologiques. Une telle richesse de notions est exposée d'une façon simple et claire. Le volume sera donc accueilli avec plaisir non seulement par les étudiants, qui pourront « sauter » quelques pages ça et là, mais aussi par les techniciens, les phyto-pathologistes et, peut-être, surtout par les professeurs de la matière, pour les quels il est quelquefois difficile d'indiquer des livres de consultation sur des sujets développés dans ces dernières années.

G. GOIDANICH - MANUALE DI PATOLOGIA VEGETALE, Edagricole, Bologna, Vol. I, 713 pp., Lire 7.000.

The first volume of the new handbook by G. GOIDANICH deals with general plant pathology that is: the history and an outline of plant pathology, symptomatology, pathological anatomy, physiopathology, pathogenesis, epidemiology and therapy. The last chapter of this volume, which deals with physiological diseases is also the first of the special part, which will be the subject of the other volumes.

The present volume, excellently printed and produced, with clear tables and drawings and very good black and white and colour photographs, has succeeded in condensing the vastness of the subjects which, as time passes, enter the field of research of plant pathology. More than 30 pages are devoted to the economic importance, to the damages and estimate of diseases; more than 20 pages deal with injuries and the processes of repair and regeneration, almost 100 pages are on physiopathology and the description of pathogenetical processes. Of special practical interest seem to me the descriptions of the techniques of soil disinfection (15 pages and more), the chapter on weed control, which is something of a novelty for our handbooks (over 50 pages), the description of machines for the application of treatments (over 25 pages). The volume also touches, though very briefly, on the problems of « smog », anti-hail defence, and the organization of phytopathological services.

Such abundance of facts is explained in a simple and clear manner. The volume will be received with pleasure not only by students, who may wish to « skip » a few pages here and there, but also by technicians, phytopathologists and perhaps above all by teachers who sometimes have difficulty in advising the right books for information on those branches which have developed in the last few years.

A. CICCARONE

HORSFALL J. C. e A. E. DIMOND - PLANT PATHOLOGY. An advanced treatise. Volume I: *The diseased plant*, 674 pp., 1959, dollari 22. Volume II: *The pathogen*, 715 pp., 1960, dollari 22. Volume III: *The diseased population*, 675 pp., 1960, Academic Press, New York e London, dollari 22.

Quest'opera, alla quale hanno partecipato studiosi di tutto il mondo, si riattacca, nella impostazione, a quegli studi sulla biologia dei parassiti vegetali e sulla patogenesi, cui E. FISCHER e E. GÄUMANN (*Biologie der Pflanzenbewohnenden parasitischen Pilze*) e poi ancora GÄUMANN (*Pflanzliche Infektionslehre*) hanno dato finora un particolare contributo.

Il trattato è lo studio del processo patologico, visto dal punto di vista dell'ospite (volume I), del patogeno (volume II) e infine dell'epidemiologia della popolazione parassitata (volume III). Ho preferito dire: « parassitata », anziché « ammalata », in quanto, per lo stesso impianto dell'opera, la trattazione si riferisce alle sole malattie parassitarie e, in particolare, a quelle fungine. Questa limitazione degli argomenti ha permesso agli Editori di seguire e di far seguire dai collaboratori dei tre volumi un filo logico, che non è quasi mai interrotto, e che mette in evidenza i diversi punti di vista dai quali i rapporti fra ospite e parassita — in particolare, come si è detto, fungo parassita — possono essere indagati e conosciuti, prima e dopo l'infezione dell'individuo e poi nei rapporti fra individui malati, parassiti e popolazioni.

Il compito è, come si vede, di grande difficoltà, per la massa dei dati e delle idee accumulatisi negli ultimi quindici anni e deve aver richiesto agli Editori un faticoso lavoro di coordinamento perché i diversi capitoli dei tre volumi, scritti da autori diversi, mostrassero non solo omogeneità e concordanza, ma uniformità anche di stile.

Dare un'idea della vastissima materia trattata è impossibile. Si va dalla teoria della ipersensibilità (di R. O. MÜLLER) al rilievo dei dati su una malattia in campo (*How sick is the plant?* di R. S. CHESTER), dalla eterocariosi, salvezza e adattamento (di E. W. BUXTON) e dalla genetica della patogenicità (di T. JOHNSON) alla chimica dei fungicidi (di S. RICH), dalla selezione delle piante resistenti (di E. C. STAKMAN e J. J. CHRISTENSEN) alla quarantena (di E. GRAM).

E vi sono capitoli sulla moltiplicazione dei virus (di F. C. BAWDEN), sull'inattivazione dei virus *in vitro* e *in vivo* (di R. E. F. MATTHEWS), sui nematocidi (di M. W. ALLEN).

« Plant pathology » merita di essere a portata di mano di ogni fitopatologo. I suoi tre volumi, non sono solo un aggiornamento, un'opera di consultazione, ma, se meditati, possono dare avvio a infinite ricerche.

HORSFALL J. C. et A. E. DIMOND - PLANT PATHOLOGY. An advanced treatise. Volume I: *The diseased plant*, 674 pp., 1959, dollars 22. Volume II: *The pathogen*, 715 pp., 1960, dollars 22. Volume III: *The diseased population*, 675 pages, 1960, Academic Press, New York et London, dollars 22.

Cet ouvrage auquel ont participé des spécialistes de tout le monde se rattache à ces études sur la biologie des parasites végétaux et sur la pathogénèse aux quels E. FISCHER et E. GÄUMANN (*Biologie der Pflanzenbewohnenden parasitischen Pilze*) et puis encore GÄUMANN

(*Pflanzliche Infektionslehre*) ont donné jusqu'à maintenant une contribution particulière. Le traité est l'étude du processus pathologique, considéré au point de vue de l'hôte (Volume I), du pathogène (Volume II) et finalement de l'épidémiologie de la population « parasitée » (Volume III).

J'ai préféré dire « parasitée », au lieu de « malade », parce que le développement du sujet se rapporte aux seules maladies parasitaires et, en particulier, aux maladies provoquées par les champignons. Cette limitation des sujets a permis aux Editeurs de suivre et de faire suivre par les collaborateurs des trois volumes un fil logique qui n'est presque jamais interrompu et qui fait ressortir les différents points de vue d'après lesquels on peut rechercher et connaître les rapports entre l'hôte et le parasite — en particulier, comme on déjà dit, le champignon parasite — avant et après l'infection de l'individu et puis dans les rapports parmi les individus malades, le parasite et la population. La tâche, c'est évident, est très difficile à cause de la richesse des données et des idées entassées pendant les dernières 15 années et elle a dû demander aux Editeurs un travail fatigant de coordination pour que les différents chapitres des trois volumes, écrits par des auteurs différents, eussent non seulement une structure homogène et concordante, mais aussi un style uniforme.

Il est impossible de donner une idée de la très vaste matière traitée. Elle s'étend de la théorie de l'ipersensibilité (R. O. MÜLLER) à la évaluation des maladies (*How sick is the plant?* par R. S. CHESTER), de l'hétérocariose, la salutation et l'adaptation (E. W. BUXTON) et de la génétique de la pathogénicité (T. JOHNSON) à la chimie des fongicides (S. RICH), de la sélection des plantes résistantes (E. C. STAKMAN et J. J. CHRISTENSEN) à la quarantaine. Il y a aussi des chapitres sur la multiplication des virus (F. C. BAWDEN), sur l'inactivation des virus « *in vitro* » et « *in vivo* » (R. E. F. MATTHEWS) et sur les nématocides (M. W. ALLEN).

« Plant pathology » mérite d'être à la disposition de chaque phytopathologiste; ses trois volumes peuvent être non seulement une source moderne de renseignement et de consultation, mais, aussi, si on les médite, le commencement d'innombrables recherches.

J. C. HORSFALL and A. E. DIMOND - PLANT PATHOLOGY. An advanced treatise. Volume I: *The diseased plant*, 674 pp., 1959, 22 dollars. Volume II: *The pathogen*, 715 pp., 1960, 22 dollars. Volume III: *The diseased population*, 675 pp., 1960, Academic Press, New York and London, 22 dollars.

This treatise, to which scientists from the whole World have contributed, derives its approach from those studies on pathogenesis and on the biology of plant parasites, which were initiated by E. FISCHER and E. GÄUMANN (*Biologie der Pflanzenbewohnenden parasitischen Pilze*) and resumed by GÄUMANN (*Pflanzliche Infektionslehre*) in past decades.

The treatise examines the pathological process from the point of view of the host (volume I), of the pathogen (volume II), and lastly of the epidemiology of the parasitized population (volume III). I have chosen to say « parasitized » instead of « diseased » since, to the structure of this treatise, only parasitic diseases are dealt with, and specifically those caused by

fungi. This delimitation of the subject matter has allowed the editors to follow, and to make the contributors follow, a logical thread. This is almost never interrupted and it helps to emphasize those principal points of view from which the relationship between host and parasite — specifically, as has been pointed out, the fungous parasite — can be studied: that is, before and after the infection of a single plant and in the relationships between diseased individual plants, parasites and populations.

The task was a very difficult one, owing to the quantity of data and ideas gathered during the past fifteen years, and must have demanded from the editors much labour in order to coordinate the chapters written by the different authors and make them not only homogeneous and concordant but also uniform in style.

It is impossible to give an idea of the vastness of the subjects treated. They range from

the theory of hypersensitivity (by K. O. MÜLLER) to the collection of data on a disease in the field (How sick is the plant? by R. S. CHESTER), from heterocariosis, saltation, and adaptation (by E. W. BUXTON), and from genetics of pathogenicity (by T. JOHNSON) to the chemistry of fungicides (by S. RICH), from the selection of resistant plants (by E. C. STAKMAN and J. J. CHRISTENSEN) to quarantine (by E. GRAM).

There are also chapters on virus multiplication (by F. C. BAWDEN), on virus inactivation «in vitro» and «in vivo» (by R. E. P. MATTHEWS), and on nematocides (by M. W. ALLEN).

«Plant Pathology» deserves to be within reach of every phytopathologist. Its three volumes are not merely a source of reference and up to date information, but, if closely studied, they may inspire numberless new lines of research.

A. GRANITI

RIVISTA DI PATOLOGIA VEGETALE, Serie III, Tipografia del Libro, Pavia.

Con l'inizio del nuovo anno (1961) è apparso il primo fascicolo (gennaio-marzo) della Serie III della «Rivista di Patologia vegetale», diretta dai Proff. E. BALDACCI, R. CIFERRI, C. A. GHILLINI, G. SCARAMUZZI e redatta dal Prof. R. CIFERRI.

La vecchia e tanto utile «Rivista di Patologia vegetale», fondata dai fratelli BERLESE e, nella sua seconda serie, lungamente diretta da L. MONTEMARTINI, inizia così la III serie della sua vita, in degna e bella veste editoriale.

Il primo numero, oltre a un interessante «Proemio» di R. CIFERRI e a lavori di M. SALERNO e P. ALGHISI, riporta anche una recente nota di A. TROTTER, sfuggita certo a molti. Esso numero si riattacca così anche più da vicino alla tradizione italiana e sarà certo accolto come una buona notizia, come un segno di rinnovata attività di studi, dai nostri fitopatologi.

Al lavoro coraggiosamente iniziato dal Professor R. CIFERRI e dagli altri con-direttori gli auguri più sinceri di «Phytopathologia mediterranea».

RIVISTA DI PATOLOGIA VEGETALE, 3ème Série, Tipografia del Libro, Pavia.

Au commencement du nouvel an (1961) est apparu le premier fascicule (Janvier-Mars) de la 3ème série de la «Rivista di Patologia vegetale» dirigée par MM. les Professeurs E. BALDACCI, R. CIFERRI, C. A. GHILLINI, G. SCARAMUZZI, et rédigée par M. le Professeur CIFERRI.

La vieille et très utile «Rivista di Patologia vegetale» fondée par les frères BERLESE et pendant long temp rédigée, dans sa deuxième série, par L. MONTEMARTINI, commence ainsi la 3ème série de son existence, dans une belle et digne édition.

Le premier numero, outre à une intéressante introduction («Proemio») de R. CIFERRI et aux articles de M. SALERNO et de P. ALGHISI, contient aussi une récente note de A. TROTTER, que est échappée, certs, à plusieurs. De cette manière, ce numero se rattache de plus près à la tradition italienne et sera certainement accueilli par nos phytopathologistes comme une bonne nouvelle et comme une marque d'une activité renouvelée d'études.

«Phytopathologia Mediterranea» exprime ses vœux les plus sincères à l'oeuvre que M. le Professeur CIFERRI et les autres co-directeurs ont si courageusement commencée.

RIVISTA DI PATOLOGIA VEGETALE, 3rd series, Tipografia del Libro, Pavia.

At the beginning of 1961 the first number (January-March) of the 3rd series of the «Rivista di Patologia vegetale» has appeared, edited by Professors E. BALDACCI, R. CIFERRI, C. A. GHILLINI, G. SCARAMUZZI, editor-in-chief Prof. R. CIFERRI.

The old, extremely valuable «Rivista di Patologia vegetale» founded by the brothers A. N. and A. BERLESE, and in its 2nd series edited for a long time by L. MONTEMARTINI, thus begins its 3rd series.

The first issue, which is very carefully produced, besides an interesting «Proemio» by R. CIFERRI and papers by M. SALERNO and P. ALGHISI, also republishes a recent article by A. TROTTER, which has probably escaped the notice of many readers. This issue thus continues closely the Italian tradition and will certainly be accepted with keen interest and satisfaction, as a sign of renewed scientific activity on the part of our phytopathologists.

«Phytopathologia Mediterranea» wishes the greatest success to Professor R. CIFERRI together with his coeditors in their task so brilliantly undertaken.

A. CICCARONE e G. GOĐANICH

PROTECTIA PLANTELOR ÎN SPRIJINUL ZONARII PRODUCTIEI AGRICOLE ÎN R.P.R.

(La protezione delle piante in rapporto alla ripartizione per zone della produzione agricola nella Repubblica Popolare Romena).

Coordinatori: ALICE SĂVULESCU, ANA HULEA e ELENA BUCUR. Editura Academiei Republicii Populare Romîne, 1960, 416 pp.

Questo interessante volume, come è detto nel riassunto, rappresenta una sintesi della situazione fitosanitaria e della distribuzione geografica delle malattie in genere e soprattutto dei parassiti vegetali e degli animali dannosi alle piante agrarie e forestali, secondo le osservazioni degli ultimi 25-30 anni.

A un'introduzione generale seguono i capitoli dedicati ai singoli gruppi di colture. Le specie parassite sono esaminate nella loro importanza economica, nella distribuzione geografica nelle diverse regioni del Paese, nei dati ecologici e biologici strettamente legati all'applicazione delle misure preventive e di lotta. Il volume è dunque di vero interesse non solo per chi deve applicare la lotta antiparassitaria in Romania, ma anche per chi desidera avere un orientamento sull'ecologia di questi fenomeni in Europa. Nel libro si trovano anche raccolte notizie utili che pure sfuggono a chi non è del Paese [recente introduzione di *Corynebacterium michiganense* Jensen in Romania e mezzi consigliati per combatterlo; importanza di *Actinomyces Totschidlowski* Serb. sul Peperone; importanza economica di *Polystigma rubrum* (Pers.) DC sui *Prunus* spp. e sua associazione a *Gloeosporium polistigmaticola* Bondartzev, ecc.]. Meraviglia alquanto la scarsa importanza che in Romania sembra avere la « degenerazione infettiva » della Vite.

Impossibile sarebbe esaminare qui la materia del libro. Basterà ricordare che esso è arricchito da 47 carte geografiche, da 9 riassunti tabulari (comprendenti ognuno molte pagine) e da una bibliografia di 121 titoli. Un riassunto russo e uno francese concludono il volume.

PROTECTIA PLANTELOR ÎN SPRIJINUL ZONARII PRODUCTIEI AGRICOLE ÎN R.P.R.

La protection des plantes en rapport à la répartition en zones de la production agricole dans la République Populaire Roumaine).

Coordinnateurs: ALICE SĂVULESCU, ANA HULEA et ELENA BUCUR. Editura Academiei Republicii Populare Romîne, 1960, 416 pp.

Cet intéressant volume représente, comme on dit dans le résumé, une synthèse de la situation traitant chaque groupe de cultures. Les espèces parasites sont examinées selon leur importance générale et surtout des parasites végétaux et des animaux dangereux aux plantes agraires et forestières, selon les observations des dernières 25-30 années.

A l'introduction générale suivent les chapitres traitant chaque groupe de cultures. Les espèces parasites sont examinées selon leur importance économique, leur distribution géographique dans les différentes régions du pays et les données écologiques et biologiques étroitement liées à l'applications des mesures préventives et de

lutte. Le volume est donc d'un grand intérêt non seulement pour ceux qui doivent exercer la lutte antiparasitaire en Roumanie, mais aussi pour ceux qui désirent avoir un orientation sur l'écologie de ces phénomènes en Europe. D'utiles notices, qui pourtant échappent à ceux qui ne sont pas du Pays, sont aussi recueillies dans le livre [la récente introduction de *Corynebacterium michiganense* Jensen en Roumanie et les moyens conseillés pour le combattre; l'importance de *Actinomyces Totschidlowski* Serb. sur le Piment; l'importance économique de *Polystigma rubrum* (Pers.) DC. sur les *Prunus* spp. et son association à *Gloeosporium polistigmaticola* Bondartzev, etc.]. D'autre part, en Roumanie la « dégénération infectieuse » de la Vigne semble avoir une médiocre importance. Il serait impossible ici d'examiner toute la matière du livre. Il suffit de rappeler qu'il est garni de 47 cartes géographiques, de 9 résumés tabulaires (dont chacune comprend plusieurs pages) et d'une bibliographie de 121 titres. Un résumé russe et un résumé français achèvent le livre.

PROTECTIA PLANTELOR ÎN SPRIJINUL ZONARII PRODUCTIEI AGRICOLE ÎN R.P.R.

(Plant protection in relation to the distribution per region of agricultural produce in the Roumanian People's Republic).

Editors: ALICE SĂVULESCU, ANA HULEA and ELENA BUCUR. Editura Academiei Republicii Populare Romîne, 1960, 416 pp.

This interesting volume, as we read in the summary, gives a synthesis of the phytosanitary situation and of the geographical distribution of diseases in general, above all of plant parasites and of animals which damage agricultural and forest plants, according to observations during the past 25-30 years.

A general introduction is followed by chapters dealing with single groups of crops. The parasite species are examined as regards their economic importance, their geographical distribution in the various regions of the country, their ecological and biological features which are closely connected to the means employed in the prevention and fight against them. This volume is thus of great interest not only for those who must control pests and diseases in Roumania, but also for those who wish to have an outline of the ecology of these phenomena in Europe.

The book also contains useful information which may escape those living outside Roumania [the recent introduction of *Corynebacterium michiganense* Jensen in Roumania and the means advised to combat it; the importance of *Actinomyces Totschidlowski* Serb. on *Capsicum*; the economic importance of *Polystigma rubrum* (Pers.) DC. on *Prunus* spp. and its association with *Gloeosporium polistigmaticola* Bondartzev, etc.). One is surprised to note the scarce importance which the « infectious degeneration » of the Vine seems to have in Roumania.

It would be impossible here to examine the contents of the book. Suffice it to remember that it contains 47 geographical maps, 9 tabular summaries (each many pages long), a bibliography of 121 titles. Russian and French summaries complete the volume.

NORME PER I COLLABORATORI

Sono accolti per la pubblicazione in «Phytopathologia mediterranea» lavori originali, non pubblicati precedentemente altrove.

È prevista anche la pubblicazione di «Note Brevi», di circa 1000 parole, per la trattazione di argomenti che non necessitino di lunga discussione o dei quali l'autore intenda dare notizia preliminare; argomenti suscettibili di una più ampia redazione successiva sulla stessa Rivista.

I lavori di cui si richiede la pubblicazione debbono essere inviati ad un Membro del Comitato di redazione o direttamente a: Prof. A. Ciccarone, Istituto di Patologia vegetale dell'Università, Via Amendola 165/A, Bari, Italia; ovvero: Prof. G. Goidanich, Istituto di Patologia vegetale dell'Università, Via Filippo Re 8, Bologna. Essi possono essere redatti in una delle seguenti lingue: francese, italiano, inglese, portoghese, spagnolo e tedesco.

Ogni lavoro deve essere accompagnato, in foglio a parte, da un riassunto redatto nella stessa lingua del lavoro. Sono anche necessari un riassunto in inglese e uno in francese.

Sarà gradita una lettera di accompagnamento firmata dal Direttore dell'Istituto o Ente, da cui i lavori provengono.

La Redazione invierà all'Autore, per la correzione, le bozze in colonna e le prove dei «clichés»; il tutto dovrà essere restituito con sollecitudine.

Gli Autori che ne facciano richiesta potranno avere gli «estratti» dell'articolo pubblicato, alle condizioni indicate nel modulo per la richiesta degli «estratti» allegato alle bozze.

PREPARAZIONE DEI DATTILOSCRITTI

I lavori dovranno essere dattiloscritti a doppio spazio. Tabelle e diagrammi andranno presentati su foglio a parte. Ogni tabella e ogni diagramma andranno contraddistinti con numeri ordinali e corredati da un'intestazione che ne spieghi il contenuto. Esempio: Tabella I (ovvero: Diagramma I) - Sviluppo di *Plasmopara viticola* su piante di Vite, allevate a diverse temperature.

Meno casi eccezionali, la tabella escluderà il diagramma; e viceversa. Nel testo si farà loro riferimento con la indicazione: (Tab. I, (Diagr. I), ecc.

Nel caso la didascalia della tabella o del diagramma comprenda note che si riferiscono alla tabella o al diagramma, esse note andranno contraddistinte con lettere minuscole dell'alfabeto, in parentesi.

Dei diagrammi andrà indicata la dimensione della riproduzione.

I riferimenti bibliografici seguiranno il testo ed andranno elencati alfabeticamente, secondo i nomi degli Autori. La loro intestazione sarà: «Lavori citati». I titoli dei periodici saranno abbreviati secondo: «A World List of Scientific Periodicals» di W. A. Smith, F. L. Kent e G. B. Stratton, 3.a edizione, Butterworths.

Più lavori di uno stesso Autore andranno elencati per ordine di data di pubblicazione. Quelli pubblicati nello stesso anno andranno distinti, meno il primo, con lettere minuscole (ad esempio: 1936, 1936a, 1936b, ...).

I lavori in collaborazione di un Autore citato per altri suoi lavori andranno elencati, per data, in fondo ai lavori di quell'Autore. Il cognome del primo o del solo Autore dei lavori ne precederà le iniziali del o dei nomi di battesimo; le iniziali dei nomi di battesimo del secondo, terzo Autore, ecc. dovranno precederne il cognome.

Nell'indicazione dei lavori di più Autori, i nomi dei diversi Autori saranno tra loro separati da una virgola; quelli dell'ultimo Autore, però, andranno preceduti dalla congiunzione «e», espressa nella lingua usata dall'Autore nel testo.

Nei «Lavori citati» essi nomi saranno sottolineati due volte (==), per essere poi stampati in maiuscolo. Il numero del volume andrà sottolineato una volta (—) e sarà stampato in corsivo.

I lavori andranno dunque indicati così:

- se il lavoro è contenuto in una rivista:
HEITEFUSS R., M. A. STAHMANN, e J. C. WALKER. 1960. Oxidative enzymes in cabbage infected by *Fusarium oxysporum* f. *conglutinans*. *Phytopathology*, 50, 370-375.
- se il lavoro è un libro:
AINSWORTH G. C. e G. R. BISBY. 1954. *A Dictionary of the Fungi*. 4.a edizione, Commonwealth Mycol. Inst., Kew, 475 pp.
- se il lavoro fa parte di un'opera coordinata:
CHRIST E. G. e A. ULRICH. 1954. Grape nutrition. In: *Fruit nutrition* (N. F. CHILDERS, coordinatore), Cap. 8, Somerset Press, Somerville, 295-343.

Nel testo, si farà riferimento ai lavori nel modo seguente:

(Biraghi e Castellani, 1950, 1950a; Dowson, 1951).

Quando gli Autori sono più di due, nel testo, si scriverà: (Horsfall *et al.*, 1953).

I nomi degli Autori citati nel testo non andranno distinti dal comune carattere tipografico.

Le espressioni latine e i nomi sistematici di piante e di animali andranno sottolineati e appariranno stampati in corsivo. La prima volta essi dovranno essere scritti per esteso e seguiti dal nome abbreviato del o degli Autori:

Tilletia caries (DC) Tul. var. *agrostis* Auersw.

Se gli Autori sono più di uno, si adotterà: «*et.*». Ad esempio:

Helminthosporium sativum Pam., King et Bakke.

Quando lo stesso binomio è ripetuto nel testo, del nome generico sarà scritta solo la lettera iniziale, e il nome del o degli Autori sarà omissso:

T. caries var. *agrostis*, *H. sativum*.

INSTRUCTIONS TO CONTRIBUTORS

Original papers, previously unpublished, are accepted for the publication in «Phytopathologia mediterranea».

Short notes with no summary, limited to about 1000 words, or the equivalent space, will also be welcomed. In these «Notes», points not requiring detailed documentation are discussed briefly.

Short notes may also deal with subjects, of which the author likes to give preliminary information and which, later, might be susceptible of a wider study in this Journal.

All contributions should be sent to a Member of the Editorial Board or directly to:

Prof. G. Goidanich, Istituto di Patologia vegetale dell'Università, Via Filippo Re 8, Bologna, Italy, or to:

Prof. A. Ciccarone, Istituto di Patologia vegetale dell'Università, Via Amendola 165/A, Bari, Italy.

The papers should be written in one of the following languages: english, french, german, italian, portuguese, spanish. Each paper should be accompanied, in one or more separate sheets, by a summary written in the language used in the paper. Additional summaries in english and in french are also to be sent.

An accompanying letter signed by the Director of the Laboratory or Institution where the paper was prepared will be welcomed.

The Editors will send to the authors, for correction, the galley proofs in a single column and the engraver's proofs; all this should be returned promptly.

Authors will receive reprints of their papers, if they request them.

Their quotations are sent with the proofs.

PREPARING MANUSCRIPTS

Manuscripts should be typed double spaced.

Each table and diagram must be typed on a separate sheet and must have a heading and the appropriate Roman numeral, e. g.:

Table I (or Diagram I) - Growth of *Plasmopara viticola* on Vine plants, grown under different temperature conditions.

As a rule, tables exclude diagrams and viceversa. In the text, tables and diagrams are referred to by the indications: (Table I), (Diagr. I), etc.

Table and diagram footnotes must be indicated by alphabetical small letters, in parentheses.

The final size of diagrams must be indicated.

Literature references must be brought together at the end of the paper under the heading «Literature cited». References must be listed alphabetically, according to the author's surname.

Titles of scientific periodicals must be abbreviated in accordance with: «A World List of Scientific Periodicals» edited by W. A. Smith, F. L. Kent and G. B. Stratton, 3rd Ed., Butterworths, London, 1952.

Papers of the same author must be arranged chronologically. Those which have been published in the same year must be distinguished, except the first one, by small letters (e. g.: 1956; 1956a; 1956b, etc.).

Papers published by more than one author must follow the papers singularly published by the first author.

In each citation, the family name of the first author is given first, followed by his initials. Initials of the 2nd, 3rd, etc., authors must precede their surnames.

Whenever two or more authors' names are involved, they must be separated by a comma; but the name of the last author must be preceded by the conjunction «and» (or its equivalent in other languages, according to the language adopted in the text).

Authors' names listed under «Literature cited» must be underlined as follows: ==. They will be printed in capitals. Volume number must be underlined once (—), for indicating that it should be set in italics.

The following are typical examples:

- articles from a periodical:
HEITEFUSS R., M. A. STAHMANN and J. C. WALKER. 1960. Oxidative enzymes in cabbage infected by *Fusarium oxysporum* f. *conglutinans*. *Phytopathology*, 50, 370-375.
- book citations:
AINSWORTH G. C. and G. R. BISBY. 1954. *A Dictionary of the Fungi*. 4th ed., Commonwealth Mycol. Inst., Kew, 475 pp.
- papers from an edited publication:
CHRIST E. C. and A. ULRICH. 1954. Grape nutrition. In: *Fruit nutrition* (N. F. CHILDERS, editor), Chapter 8, Somerset Press, Somerville, 295-343.

In the body of the paper, references to literature must not be underlined, e. g.:

(Biraghi and Castellani, 1950; Dowson, 1951; 1951a).

When there are more than two authors, the citation (in the text) must be as follows:

(Horsfall *et al.*, 1953).

Latin sentences and Latin taxonomic names of plants and animals should be underlined. They are printed in italics. The generic name of binomials or trinomials must be spelled out only the first time it is used. In this case, the names of the author(s) of the species must be mentioned, too; e. g.:

Tilletia caries (DC) Tul. var. *agrostis* Auersw.

Whenever two or more authors' names are involved, the final connective should be the Latin «et», e. g.:

Helminthosporium sativum Pam., King et Bakke.

When the same binomial is repeated in the text, the generic name should be abbreviated and the author's name omitted, e. g.:

I nomi volgari delle specie andranno scritti con lettera iniziale maiuscola, quando ci si riferisce alla specie in genere. Esempio:

«La Patata è in genere danneggiata da *Phytophthora infestans* (Mont.) de By.».

Quando ci si riferisce a individui o a gruppi di individui della specie, si adotterà l'iniziale minuscola. Esempio:

«Nella vallata, alcune patate furono molto danneggiate dal gelo».

I nomi di varietà orticole (cultivar = cv), di razze o stirpi andranno scritti tra virgolette. Esempio:

La cv «Ponderosa».

Le parole o le frasi su cui si desidera richiamare l'attenzione dovranno essere sottolineate con una linea spezzata (— — — — —).

Per i numeri decimali, si userà la virgola dopo le unità (ad esempio: g 0,8). Il punto fermo separerà ogni gruppo di tre cifre (ad esempio: 1.000 mille).

Le note a piè di pagina andranno numerate progressivamente e dattiloscritte su un foglio separato.

Le illustrazioni possono essere rappresentate da fotografie o da disegni, in bianco e nero o a colori. Esse debbono essere presentate in fogli separati, numerate progressivamente e provviste di didascalie, le quali ultime vanno dattiloscritte su fogli a parte.

Le fotografie debbono essere stampate su carta lucida bianca. Lettere minuscole indicheranno le singole parti dei fotomontaggi o comunque elementi salienti della fotografia o del disegno.

I disegni saranno eseguiti con inchiostro di China nero. Di essi, come di ogni altra illustrazione, sarà indicata la dimensione della riproduzione.

Ogni illustrazione (fotografia o disegno) deve essere accompagnata dalla indicazione delle dimensioni della riproduzione.

Quando è possibile, le illustrazioni andranno corredate del loro numero di ingrandimenti. Esempio:

Fig. 2. Macchia batterica... (100 diam., oppure: x 100).

Nel testo, si dovrà fare riferimento alle figure con l'indicazione:

(Fig. 2); (Figg. 1, 2 e 3); ecc.

Nel testo ci si dovrà attenere ai simboli e alle abbreviazioni più comuni riportate nell'elenco che segue:

H. sativum, *T. caries* var. *agrostis*.

Common names of plants should be written with capital initials, when the species (or taxon) in its whole is considered, e. g.:

«Potato is commonly affected by *Phytophthora infestans* (Mont.) de By.».

When individuals or groups of individuals are considered, small letters should be used, e. g.:

«In the valley, potatoes were severely damaged by frost».

Names of cultivated varieties (cultivars = cv), of races or strains should be enclosed in inverted commas, e. g.:

The cv «Ponderosa».

Words and sentences of particular importance must be underlined with an interrupted line (— — — — —).

A comma must be used for indicating decimal fractions (e. g.: g 0,8); a dot for separating groups of three figures (e. g.: 1.000 one thousand).

Footnotes must be typed on one or more separate sheets.

References to footnotes must be indicated by arabic numerals in parentheses, numbered successively throughout the paper.

Photographs and drawings, either in black and white or in colour, designated by consecutive arabic numerals, should be submitted in separate sheets.

To every illustration (photograph or drawing) a legend (typed on a separate sheet) must be appended. The final size of the illustrations must be indicated.

Photographs must be printed on white glossy paper. Small letters are used for designating single parts of a figure or table.

Drawings must be prepared in black India ink.

Whenever possible, the enlargements of illustrations should be indicated, e. g.:

Fig. 2. Bacterial spot... (x 100; or 100 diam.).

In the text, references to illustrations must be indicated as follows:

(Fig. 2); (Figg. 1, 2, and 3), etc.

Preferred symbols and abbreviations are:

Lista delle abbreviazioni e dei simboli

Å	per Angstrom
C	» centigrado
C.D.U.	» classificazione Decimale Universale
cg	» centigrammo
cm	» centimetro
cm ²	» centimetro quadrato
cm ³ o cc	» centimetro cubico
cv	» cultivar
dm	» decimetro
dm ²	» decimetro quadrato
dm ³	» decimetro cubico
ED ₅₀	» dose efficace al 50 %
F	» Fahrenheit
g	» grammo
h	» ora
ha	» ettaro
hl	» ettolitro
kg	» chilogrammo
km	» chilometro
km ²	» chilometro quadrato
l	» litro
LD ₅₀ LD ₉₀	» dose letale al 50 %, al 90 %
ln	» logaritmo naturale
log	» logaritmo decimale
M	» molare
m	» metro
m ²	» metro quadrato
m ³	» metro cubo
ml	» millilitro
min	» minuto primo
mm	» millimetro
mm ²	» millimetro quadrato
mm ³	» millimetro cubo
mg	» milligrammo
μl	» microlitro (10 ⁻⁸ cm ³)
μ	» micron (10 ⁻³ mm)
mμ	» millimicron (10 ⁻⁶ mm)
μg	» microgrammo (10 ⁻⁶ g)
μμg	» 10 ⁻¹² grammi (10 ⁻¹² g)
N	» normale
n.	» numero
ppm	» parti per milione
q	» quintale
sec	» minuto secondo
σ	» millesimo di secondo
t	» tonnellata
%	» per cento
‰	» per mille
/	» per (nei rapporti)
*	» statisticamente significativo al 5 %
**	» statisticamente significativo all'1 %
o	» grado

List of the abbreviations and of the symbols

Angstrom unit
centigrade
Universal Decimal classification
centigram
centimetre
square centimetre
cubic centimetre
cultivated variety
decimetre
square decimetre
cubic decimetre
efficient dose at 50 %
Fahrenheit
gram
hour
hectare
hectolitre
kilogram
kilometre
square kilometre
litre
lethal dose at 50 %, at 90 %
natural logarithm
decimal logarithm
molar
metre
square metre
cubic metre
millilitre
minute
millimetre
square millimetre
cubic millimetre
milligram
microlitre
micron
millimicron
microgram
micromicrogram
normal
number
parts per million
quintal
second
thousandth part of a second
ton
per cent
per thousand
by (in ratios)
statistically significant at 5 %
statistically significant at 1 %
degree